

COMPUESTOS QUÍMICOS

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a los compuestos inhibidores de $Na_v1.8$ o a las sales o formas tautoméricas farmacéuticamente aceptables de estos, composiciones o formulaciones farmacéuticas correspondientes, los métodos o procesos de preparación de los compuestos, los métodos, los compuestos para usarse en, usos y/o terapias de combinación para el tratamiento del dolor y de las enfermedades asociadas con el dolor, así como de las enfermedades cardiovasculares.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El dolor es un mecanismo de protección por el que los animales evitan posibles daños en los tejidos, pero hay numerosas indicaciones de enfermedades en las que el dolor sobrepasa su utilidad y se convierte en una carga incapacitante. Las indicaciones en las que el dolor sobrepasa su utilidad pueden clasificarse a grandes rasgos como aquellas en las que el daño o la lesión al sistema nervioso es el desencadenante (dolor neuropático), aquellas en que la respuesta inflamatoria o una desregulación metabólica sensibiliza la respuesta al dolor (dolor inflamatorio) y aquellas en las que una lesión o procedimiento quirúrgico provoca una elevación a corto plazo de la respuesta al dolor (dolor posoperatorio/ambulatorio).

Los canales de sodio activados por voltaje son la base de la señalización eléctrica de todos los tejidos excitables al establecer el umbral y subyacer a la carrera ascendente de los potenciales de acción. Existen nueve isoformas distintas de canales de sodio activados por voltaje. Los denominados $Na_v1.1$, $Na_v1.7$, $Na_v1.8$ y $Na_v1.9$ se expresan principalmente en los nervios periféricos, donde controlan la excitabilidad neuronal. $Na_v1.5$ es la isoforma principal del canal de sodio que se expresa en los miocitos cardíacos, $Na_v1.4$ se expresa y funciona en el músculo esquelético, mientras que $Na_v1.1$, $Na_v1.2$, $Na_v1.3$ y $Na_v1.6$ se expresan ampliamente en el sistema nervioso central (CNS) y, en cierta medida, en el sistema nervioso periférico. La función principal de estos nueve canales de sodio activados por voltaje es comparable, ya que controlan la entrada de sodio en las células, pero sus propiedades biofísicas varían, lo que influye en gran medida el perfil fisiológico de su respectivo tipo de célula (Catterall, 2012).

En la actualidad, los inhibidores no selectivos de los canales de sodio se utilizan clínicamente como terapias antiarrítmicas y anticonvulsivas, entre las que se encuentran la

lidocaína, carbamazepina, amitriptilina y mexiletina. Sin embargo, como estos agentes presentan una falta de selectividad entre las diferentes isoformas de los canales de sodio, su utilidad terapéutica se ve muy reducida debido a los efectos secundarios adversos, mediados en gran medida por la actividad en el CNS y corazón. Esto ha estimulado los esfuerzos para crear medicamentos nuevos que sean selectivos para isoformas específicas del canal de sodio con el fin de evitar los efectos secundarios en el CNS y sistema cardiovascular.

El canal $Na_v1.8$ se expresa en las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) y se expresa en gran medida en las neuronas de diámetro pequeño de este tejido que forman las fibras nerviosas C- y A δ - que detectan el dolor (Abrahamsen, 2008; Amaya, 2000; Novakovic, 1998). El canal se propuso como objetivo terapéutico para la analgesia tan pronto como se clonó originalmente en el DRG de rata (Akopian, 1996), debido a su destacada función fisiológico en este tipo de tejido y a su perfil de expresión restringido. Posteriormente se identificó, clonó y caracterizó $Na_v1.8$ a partir de tejido DRG humano (Rabart 1998). El pariente molecular más cercano de $Na_v1.8$ es $Na_v1.5$ que comparte una homología de secuencia del ~60 %. $Na_v1.8$ se conocía anteriormente como SNS (canal de sodio de la neurona sensorial), PN3 (canal de sodio del nervio periférico tipo 3) y, dado que presenta propiedades farmacológicas características en su resistencia al bloqueo por tetrodotoxina, también se describe como un canal de sodio resistente a TTX.

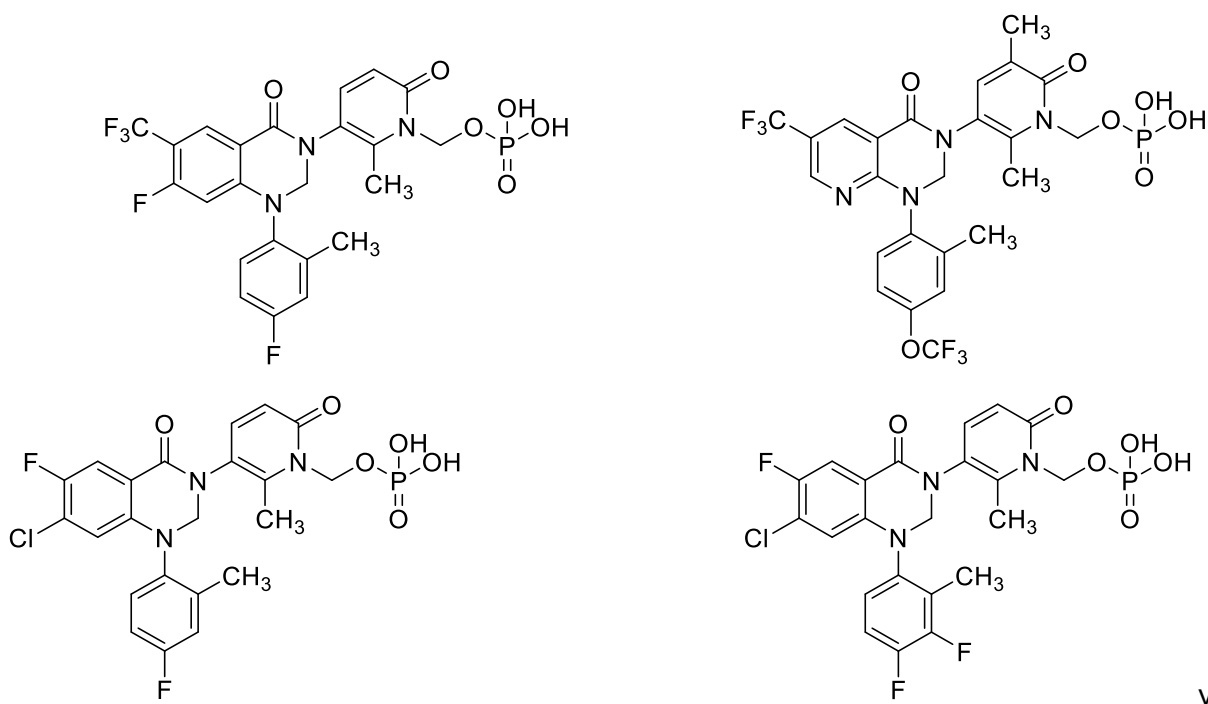
El soporte para $Na_v1.8$ como un objetivo terapéutico para las indicaciones del dolor procede de varias fuentes. Se ha demostrado que $Na_v1.8$ conduce la mayor parte de la corriente durante el recorrido ascendente del potencial de acción en las neuronas del DRG (Blair & Bean, 2002) y debido a su tasa de reprimarización, también es crucial para la capacidad de estas neuronas disparar repetidamente (Blair and Bean, 2003). Se ha informado de un aumento de la expresión y función de $Na_v1.8$ en respuesta a estímulos dolorosos como los mediadores inflamatorios (England 1996 & Gold 1996), daño nervioso (Roza 2003 & Ruangsri 2011) y dentro de neuromas dolorosos (Black 2008 & Coward 2000). La supresión del gen que codifica $Nav1.8$ en ratones dio lugar a una reducción del fenotipo del dolor, en particular ante las dificultades inflamatorias (Akopian 1999). La supresión del mRNA que codifica $Na_v1.8$ también dio lugar a una reducción de los fenotipos dolorosos en modelos de roedores, especialmente en modelos neuropáticos (Lai 2002). La intervención farmacológica por medio de inhibidores selectivos de molécula pequeña ha demostrado su eficacia en modelos de dolor inflamatorio y neuropático en roedores (Jarvis 2007 & Payne 2015). Las pruebas de genética de apoyo a $Na_v1.8$ también están presente en pacientes con dolor neuropático crónico, donde se ha informado de que múltiples mutaciones de ganancia de

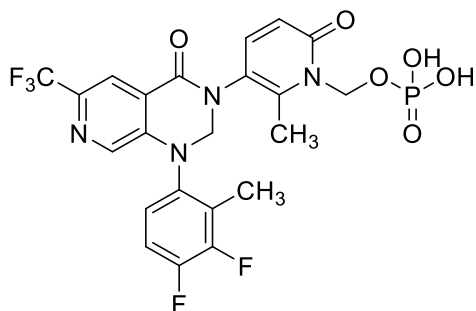
función son causantes de neuropatías dolorosas episódicas y neuropatías de fibras pequeñas (Faber 2012, Han 2014 & Eijkenboom 2018).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Por consiguiente, existe la necesidad de crear compuestos novedosos, particularmente los compuestos inhibidores de Na_v1.8 que tienen solubilidad mejorada y que, por tanto, presentan una mayor ventaja para las vías alternativas de administración, tal como la administración intravenosa, para usarse en el tratamiento del dolor y de las enfermedades asociadas con el dolor, así como de las enfermedades cardiovasculares. La invención satisface esta necesidad al proporcionar compuestos con actividad inhibidora de Na_v1.8 y profármacos de compuestos con actividad inhibidora de Na_v1.8 y usos de tales compuestos y profármacos en el tratamiento del dolor y de las enfermedades asociadas con el dolor, así como de las enfermedades cardiovasculares. Los profármacos de la invención en particular han mejorado la solubilidad en comparación con sus respectivos compuestos primarios y, por lo tanto, pueden ser útiles para la administración intravenosa (I.V.) y el tratamiento del dolor y de las enfermedades asociadas con el dolor en los que la administración I.V. puede ser beneficiosa o preferida, tal como en el tratamiento del dolor agudo.

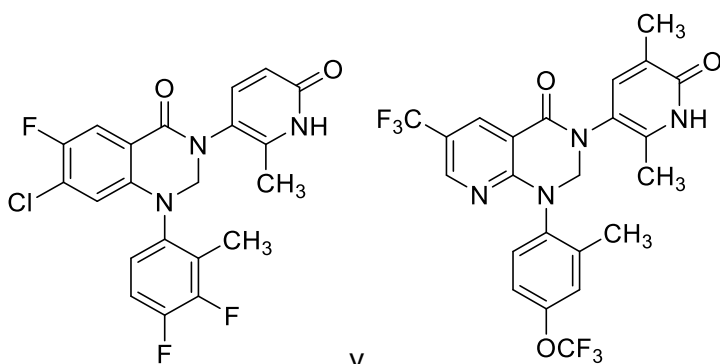
En un aspecto, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:





, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



y

o un tautómero de este, o una

5 sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En otro aspecto, se da a conocer un método para el tratamiento del dolor o de una enfermedad asociada con el dolor en un ser humano que necesita de este, el método comprende administrar al ser humano un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición farmacéutica de la invención.

15 En otro aspecto, se da a conocer un método de tratamiento de fibrilación auricular en un ser humano que necesita de este, el método comprende administrar al ser humano un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición farmacéutica de la invención.

En otro aspecto, en el presente documento se proporciona un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición

farmacéutica de la invención para usarse en la terapia.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición farmacéutica de la invención para usarse en el tratamiento del dolor o de una enfermedad asociada con el dolor.

5 En otro aspecto, se proporciona un compuesto o tautómero de este o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención, o una composición farmacéutica de la invención para usarse en el tratamiento de la fibrilación auricular.

En otro aspecto, se da a conocer el uso de un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor o de una enfermedad asociada con el dolor.

En otro aspecto, se proporciona el uso de un compuesto o tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este de la invención o una composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrilación auricular.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

La Figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) para dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino preparado según la vía 1.

La Figura 2 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) para dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilphenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino preparado según la vía 2.

La Figura 3 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) para dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilphenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino preparado según la vía 3.

La Figura 4 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) para dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilphenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino preparado según la vía 4.

La Figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) para de ((5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo cristalino (véase material).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5 Se citan o describen varias publicaciones, artículos y patentes en los antecedentes y a lo largo de la memoria. La discusión de los documentos, actos, materiales, dispositivos, artículos o similares que se han incluido en la presente memoria es con el fin de proporcionar un contexto para la divulgación. Tal discusión no constituye una admisión de que alguno o todos estos asuntos formen parte del estado de la técnica previo con respecto a la divulgación.

10 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido habitualmente para un experto en la técnica al cual pertenece esta invención. De lo contrario, ciertos términos usados en el presente documento, tienen los significados que se establecen en la memoria.

15 Como se utiliza en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una/uno”, “el” y “la” incluyen referencia plural a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

Las definiciones de los diversos grupos y grupos sustituyentes de cualquiera de las Fórmulas divulgadas en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de estas, proporcionadas a lo largo de la memoria, pretenden describir en particular cada una de
20 las series de compuestos divulgados en el presente documento, individualmente, así como grupos de una o más especies de compuestos.

El término “alquilo” se refiere a un radical hidrocarbonado saturado, lineal o ramificado, que tiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, el término “alquilo(C₁-C₆)” se refiere a un grupo alquilo que contiene 1 a 6 átomos de carbono y el término
25 “alquilo(C₁-C₃)” se refiere a un grupo alquilo que contiene 1 a 3 átomos de carbono. Los alquilos ejemplares incluyen, a mero título enunciativo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *s*-butilo, *t*-butilo, pentilo y hexilo. En algunas modalidades, “Me” se refiere a un grupo metilo.

Los términos “halógeno” y “halo” representan sustituyentes cloro (·Cl), fluoro (·F),
30 bromo (·Br) o yodo (·I).

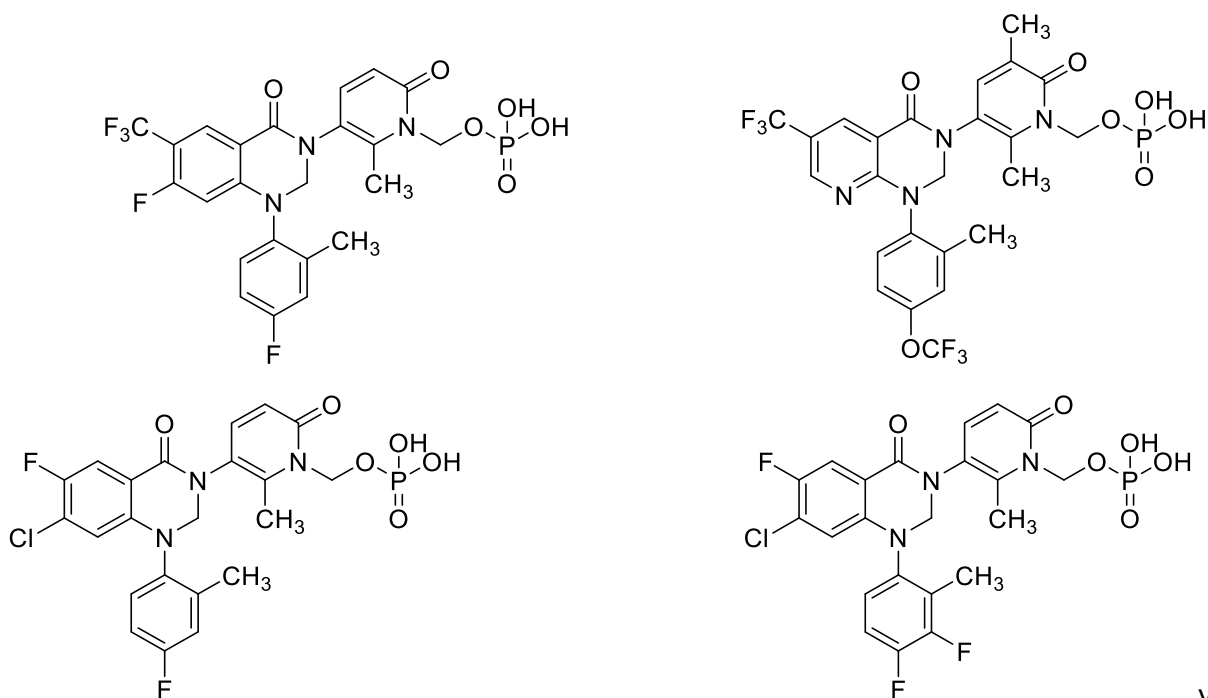
Cuando el término “alquilo” se usa en combinación con otros grupos sustituyentes, tal

como “haloalquilo”, se pretende que el término “alquilo” abarque un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada divalente, donde el punto de unión es a través de la porción alquilo.

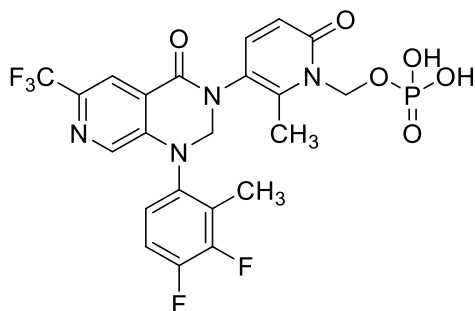
El término “haloalquilo” se refiere a un radical con uno o más átomos de halógeno, que pueden ser iguales o diferentes, en uno o más átomos de carbono de una porción de alquilo que tiene la cantidad especificada de átomos de carbono, el cual es un radical de carbono de cadena lineal o ramificada. Por ejemplo, el término “haloalquilo(C₁-C₆)” se refiere a un radical con uno o más átomos de halógeno, que pueden ser iguales o diferentes, en uno o más átomos de carbono de una porción de alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, el cual es un radical de carbono de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos de grupos “haloalquilo” incluyen, a mero título enunciativo, -CH₂F (fluorometilo), -CHF₂ (difluorometilo), -CF₃ (trifluorometilo), -CCl₃ (triclorometilo), 1,1-difluoroetilo, 2-fluoro-2-metilpropilo, 2,2-difluoropropilo, 2,2,2-trifluoroetilo y hexafluoroisopropilo.

Compuestos

En un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



y



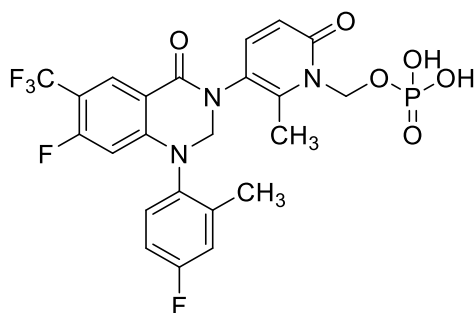
, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Tales compuestos de la invención son profármacos de sus compuestos primarios respectivos, que son los compuestos inhibidores de $\text{Na}_v1.8$. El término “profármaco” se refiere a los compuestos que son precursores de fármacos que, tras la administración y/o absorción, liberan el compuesto primario *in vivo* por medio de un proceso metabólico. Normalmente, el profármaco tiene menos actividad biológica que el compuesto primario. Un profármaco también puede mejorar las propiedades físicas y/o la eficacia del compuesto primario, tal como toxicidad reducida y un número menor de efectos no deseados a través de un mayor control de la absorción, concentraciones en sangre, distribución metabólica y/o absorción celular del compuesto primario. Los profármacos también pueden tener una solubilidad mayor que el compuesto primario correspondiente.

Tras la administración del profármaco a un sujeto, tal como un ser humano, la porción de profármaco se escinde y así da lugar al compuesto primario. Los términos “compuesto primario” y “fármaco primario” se utilizan de manera intercambiable en el presente documento y se refieren a la entidad biológicamente activa que se libera por medio de la acción enzimática de un proceso metabólico o catabólico o por medio del proceso químico que se da tras la administración del profármaco. El compuesto primario también puede ser el material de partida para la preparación del profármaco correspondiente. Sin querer limitarnos a ninguna teoría, la actividad inhibidora de $\text{Na}_v1.8$ tras la administración del profármaco se debe principalmente a la formación del compuesto primario a partir de la escisión del profármaco.

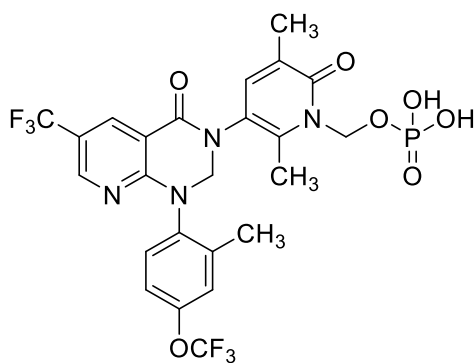
Los profármacos de la invención normalmente tienen una solubilidad acuosa mayor que los compuestos primarios correspondientes. Esta solubilidad mayor facilita la administración de mayores dosis del profármaco, que da como resultado una carga de fármaco mayor por dosis de unidad. Así, los compuestos de profármaco de la invención pueden presentar una ventaja para la formulación y la administración intravenosa (I.V.) y, por lo tanto, pueden ser un beneficio para el uso del tratamiento del dolor y para enfermedades asociadas con el dolor en las cuales la administración de mayores dosis o la administración por medio de la vía I.V. puede ser un beneficio, tal como el tratamiento del dolor agudo.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



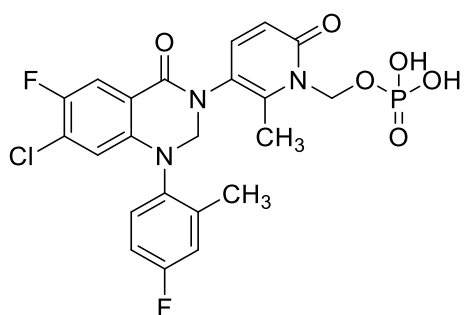
, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



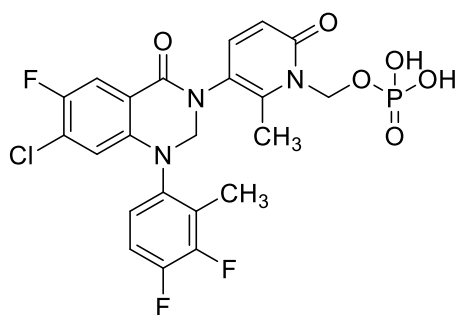
, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

5 En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



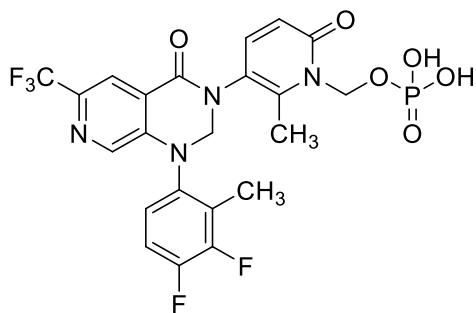
, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



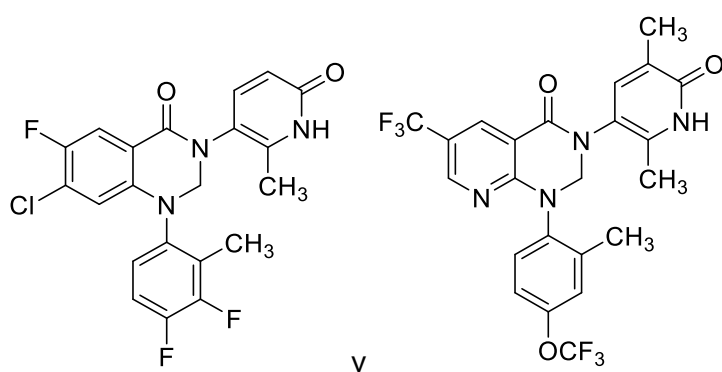
, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

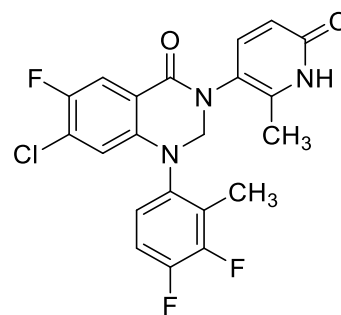
En otro aspecto, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



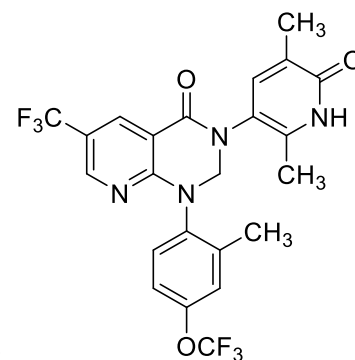
y

o un tautómero de este, o una

- 5 sal farmacéuticamente aceptable de este. Tales compuestos de la invención son compuestos primarios de determinados profármacos de la invención y tienen actividad inhibidora de Na_v1.8.



En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:
o un tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.



En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:
o un tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Sales

Debe entenderse que las referencias en el presente documento a un compuesto de la
5 invención y/o a las formas tautoméricas de este, o una sal de este incluye el compuesto y/o
formas tautoméricas correspondientes de este como una base o un ácido libre o como una
sal de este, por ejemplo, como una sal farmacéuticamente aceptable de este. Así, en una
modalidad, la invención se dirige a un compuesto de la invención y/o a las formas tautoméricas
correspondientes de este. En otra modalidad, la invención se dirige a una sal de un compuesto
10 de la invención y/o a las formas tautoméricas correspondientes de este. En una modalidad
más, la invención se dirige a una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la
invención y/o a las formas tautoméricas correspondientes de este. En otra modalidad, la
invención se dirige a un compuesto de la invención y/o a las formas tautoméricas
correspondientes de este, o a una sal de este. En una modalidad adicional, la invención se
15 dirige a un compuesto de la invención y/o a las formas tautoméricas correspondientes de este,
o a una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Debido a su uso potencial en medicina, se apreciará que una sal de un compuesto de
la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este sea preferentemente
farmacéuticamente aceptable.

20 El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellos compuestos (incluidas
las sales), materiales, composiciones y formas farmacéuticas que, dentro del alcance del buen
juicio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de humanos y animales
sin toxicidad excesiva, irritación, u otro problema o complicación, conforme a una relación
riesgo/beneficio razonable.

25 El término “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a las sales que conservan
la actividad biológica deseada del compuesto en cuestión y presentan efectos toxicológicos

mínimos no deseados. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del compuesto o al hacer reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre o base libre con una base o un ácido adecuados, respectivamente. Además, las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este pueden prepararse durante procesamiento adicional de la forma de ácido o base libre, por ejemplo, *in situ* durante la fabricación en una formulación farmacéutica.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otras, las descritas en Berge, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19 o las que figuran en P H Stahl y C G Wermuth, editores, *Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, Second Edition* Stahl/Wermuth: Wiley-VCH/VHCA, 2011.

Pueden utilizarse sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, como productos intermedios en la preparación de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácidos o bases. Dichas sales de adición de bases pueden formarse mediante la reacción de un compuesto de la invención y/o de las formas tautoméricas correspondientes de este (que, por ejemplo, contiene un grupo funcional ácido) con la base adecuada, opcionalmente en un disolvente adecuado, tal como un disolvente orgánico, para proporcionar la sal que puede aislarse mediante una o más de una serie de métodos, incluidos cristalización y filtración. Dichas sales de adición de ácido pueden formarse mediante la reacción de un compuesto de la invención y/o de las formas tautoméricas correspondientes de este (que, por ejemplo, contiene una amina básica u otro grupo funcional básico) con el ácido adecuado, opcionalmente en un disolvente adecuado, tal como un disolvente orgánico, para proporcionar la sal que puede aislarse mediante una o más de una serie de métodos, incluidos cristalización y filtración.

Las sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de un compuesto de la invención y/o de las formas tautoméricas correspondientes de este. Si un compuesto básico de la invención y/o de las formas tautoméricas correspondientes de este se aísla como una sal, la forma de base libre correspondiente de ese compuesto puede prepararse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluido el tratamiento de la sal con una base orgánica o inorgánica. De manera similar, si un compuesto de la invención y/o de las formas tautoméricas correspondientes de este que contiene un grupo funcional ácido se aísla como una sal, la forma de ácido libre correspondiente de ese compuesto se puede preparar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica,

incluido el tratamiento de la sal con un ácido orgánico o inorgánico.

Se entenderá que, si un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este contiene dos o más porciones básicas, la estequiometría de la formación de sal puede incluir 1, 2 o más equivalentes de ácido. Dichas sales contendrían 1, 2 o más contraiones ácidos, por ejemplo, una sal de diclorhidrato.

Las formas estequiométricas y no estequiométricas de una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este se incluyen dentro del alcance de la invención, incluidas las sales subestequiométricas, por ejemplo, cuando un contraión contiene más de un protón ácido.

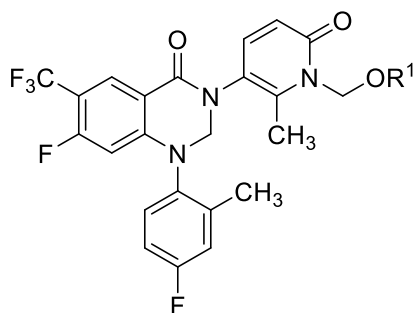
Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables representativas incluyen, a mero título enunciativo, 4-acetamidobenzoato, acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato (besilato), benzoato, bisulfato, bitartrato, butirato, edetato de calcio, canforato, canforsulfonato (camilato), caprato (decanoato), caproato (hexanoato), caprilato (octanoato), cinamato, citrato, ciclamato, digluconato, 2,5-dihidroxibenzoato, disuccinato, dodecilsulfato (estolato), edetato (etilendiaminotetraacetato), estolato (lauril sulfato sódico), etano-1,2-disulfonato (edisilato), etanosulfonato (esilato), formiato, fumarato, galactarato (mucato), gentisato (2,5-dihidroxibenzoato), glucoheptonato (gluceptato), gluconato, glucuronato, glutamato, glutarato, glicerofosforato, glicolato, hexilresorcinato, hipurato, hidrabamina (N,N'-di(deshidroabietil)-etilendiamina), hidrobromuro, hidrocioruro, hidroyoduro, hidroxinaftoato, isobutirato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, malonato, mandelato, metanosulfonato (mesilato), metilsulfato, mucato, naftaleno-1,5-disulfonato (napadisilato), naftaleno-2-sulfonato (napsilato), nicotinato, nitrato, oleato, palmitato, p-aminobencenosulfonato, p-aminosalicilato, pamoato (embonato), pantotenato, pectinato, persulfato, fenilacetato, feniletilbarbitúrico, fosfato, poligalacturonato, propionato, p-toluenosulfonato (tosilato), piroglutamato, piruvato, salicilato, sebacato, estearato, subacetato, succinato, sulfamato, sulfato, tanato, tartrato, teocato (8-cloroteofilinato), tiocianato, tritioduro, undecanoato, undecilenato y valerato.

Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables representativas incluyen, a mero título enunciativo, aluminio, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIS, trometamina), arginina, benetamina (N-bencilfenetilamina), benzatina (N,N'-dibenciletilendiamina), bis-(2-hidroxietil)amina, bismuto, calcio, cloroprocaína, colina, clemizol (1-p clorobencil-2-pirrolidin-1'-ilmetilbencimidazol), ciclohexilamina, dibenciletilendiamina, dietilamina, dietiltriaina, dimetilamina, dimetiletanolamina, dopamina, etanolamina, etilendiamina, L-histidina, hierro, isoquinolina, lepidina, litio, lisina, magnesio, meglumina (N-metilglucamina), piperazina, piperidina, potasio, procaína, quinina, quinolina, sodio, estroncio,

En algunas modalidades, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable o un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



y


$$R^1 \text{ es } -P(O)(OH)O^-M^+, -PO(O^-)_2 \cdot 2M^+, \text{ o } -PO(O^-)_2 \cdot D^{2+};$$

10 y

D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

15

diferente. En algunas modalidades, cuando dos M^+ están presentes, cada M^+ es el mismo.

Los cationes divalentes (D^{2+}) aptos para el uso de la invención incluyen, a mero título enunciativo, iones de metal alcalinotérreos y iones de aluminio divalentes. Como se lo utiliza en el presente documento, el término “metal alcalinotérreo” se refiere a los elementos del Grupo II, que incluyen, a mero título enunciativo, calcio (Ca), magnesio (Mg), estroncio (Sr) y similares.

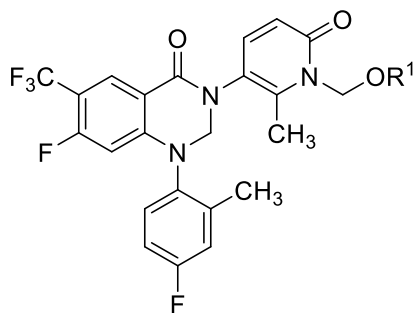
Otros cationes monovalentes y divalentes adecuados para su uso en la invención incluyen iones monovalentes o divalentes de iones aminoácidos, tales como iones monovalentes o divalentes de arginina, lisina, ornitina, etcétera. Los cationes monovalentes y divalentes que incluyen grupos básicos que contienen nitrógeno pueden prepararse mediante cuaternización con agentes, tales como haluros de alquilo inferior (p. ej., cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfatos de dialquilo (p. ej., sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), etc.

En una modalidad, cada M^+ es independientemente un ion de metal alcali. En otra modalidad, cada M^+ es independientemente Li^+ , Na^+ o K^+ . En otra modalidad, cada M^+ es Li^+ . En otra modalidad, cada M^+ es Na^+ . En otra modalidad, cada M^+ es K^+ .

En una modalidad, cada M^+ es independientemente un ion de amonio. En otra modalidad, cada M^+ es independientemente un ion de amonio de la fórmula $-N(R^a)_4$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, ciclohexilo o -alquilo(C_1-C_6) opcionalmente sustituido con 1 a 6 grupos -OH. En otra modalidad, cada M^+ es independientemente un ion de amonio seleccionado de NH_4^+ , ion etanolamina ($H_3N^+CH_2CH_2OH$), ion N-metil-D-glucamina e ion dicitclohexilamina. En otra modalidad, cada M^+ es NH_4^+ . En otra modalidad, cada M^+ es $H_3N^+CH_2CH_2OH$ (ion etanolamina).

En una modalidad, cada D^{2+} es un ion de metal alcalinotérreo. En otra modalidad, D^{2+} es Mg^{2+} , Ca^{2+} o Sr^{2+} . En otra modalidad, D^{2+} es Mg^{2+} o Ca^{2+} . En otra modalidad, D^{2+} es Mg^{2+} . En otra modalidad, D^{2+} es Ca^{2+} .

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



, donde:

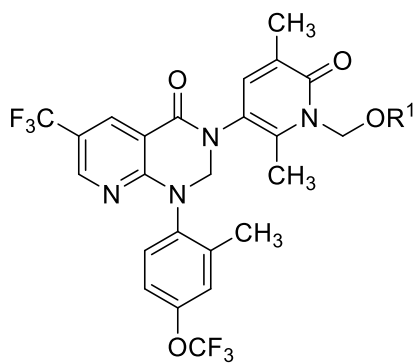
R^1 es $-P(O)(OH)O-M^+$, $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$, o $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$;

cada M^+ es independientemente un catión monovalente farmacéuticamente aceptable;

y

5 D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



, donde:

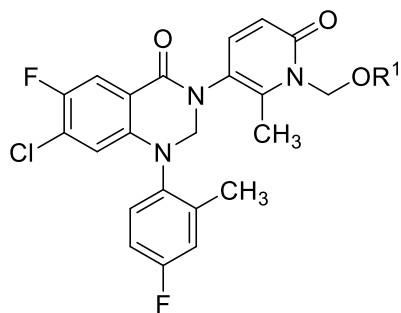
R^1 es $-P(O)(OH)O-M^+$, $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$, o $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$;

cada M^+ es independientemente un catión monovalente farmacéuticamente aceptable;

10 y

D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



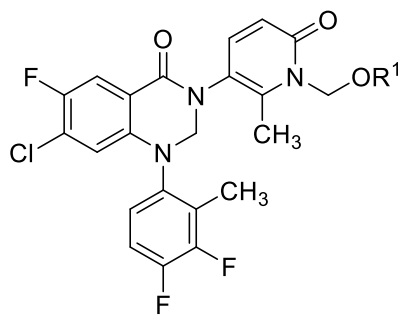
R^1 es $-P(O)(OH)O-M^+$, $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$, o $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$;

cada M^+ es independientemente un catión monovalente farmacéuticamente aceptable;

y

5 D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



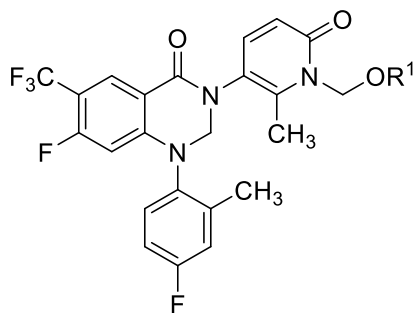
R^1 es $-P(O)(OH)O-M^+$, $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$, o $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$;

cada M^+ es independientemente un catión monovalente farmacéuticamente aceptable;

10 y

D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad, se proporciona un compuesto que es:



, donde:

R^1 es $-P(O)(OH)O-M^+$, $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$, o $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$;

cada M^+ es independientemente un catión monovalente farmacéuticamente aceptable;

y

5 D^{2+} es un catión divalente farmacéuticamente aceptable.

Solvatos/Cristales/Cocristales

Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con los disolventes en los que reaccionan o de los que se precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como “solvatos”. Por ejemplo, un complejo, con agua se conoce como “hidrato”. Para formar solvatos pueden utilizarse disolventes con puntos de ebullición elevados y/o disolventes con gran propensión a formar enlaces de hidrógeno, tales como agua, etanol, alcohol isopropílico y N-metilpirrolidinona. Los métodos para la identificación de solvatos incluyen, a mero título enunciativo, la NMR y el microanálisis. Los compuestos de la invención y/o las formas tautoméricas de estos o las sales de este, puede existir en formas solvatadas y no solvatadas.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina o amorfa. La forma cristalina termodinámicamente más estable de un compuesto de la invención es de particular interés.

Las formas cristalinas de los compuestos de la invención se pueden caracterizar y diferenciar utilizando varias técnicas analíticas convencionales, que incluyen, a mero título enunciativo, difracción de rayos X en polvo (XRPD), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear de estado sólido (ssNMR).

En una modalidad, la invención proporciona una forma cristalina de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo.

En otra modalidad, la invención proporciona una forma cristalina de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide mediante el uso de la radiación Cu K α , de aproximadamente 11,9, aproximadamente 13,2, aproximadamente 14,7 y/o aproximadamente 16,0 grados 2 θ .

En otra modalidad, la invención proporciona una forma cristalina de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide mediante el uso de la radiación Cu K α , sustancialmente como se indica en la Tabla 2.

En una modalidad más, la invención proporciona una forma cristalina de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) sustancialmente de conformidad con la Figura 4.

Cuando en el presente documento se indica que hay un pico en un patrón XRPD en un valor determinado, normalmente se quiere decir que el pico está dentro de $\pm 0,2$, por ejemplo, $\pm 0,1$, del valor citado.

Estereoisómeros

Los compuestos de la invención y/o las formas tautoméricas de estos, las sales farmacéuticamente aceptables de estos pueden contener uno o más centros asimétricos (también denominado centro quiral) y pueden, por lo tanto, existir como enantiómeros individuales, diastereómeros o como otras formas estereoisoméricas, o como mezclas de estos. Los centros quirales, tales como los átomos de carbono quirales, también pueden estar presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Cuando no se especifica la estereoquímica de un centro quiral presente en un compuesto de la invención o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, la estructura pretende abarcar todos los estereoisómeros individuales y todas las mezclas de estos. Por lo tanto, los compuestos de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de estos, y las sales farmacéuticamente aceptables de estos que contienen uno o más centros quirales, pueden usarse como mezclas racémicas, mezclas enantioméricamente enriquecidas, o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros.

Los estereoisómeros individuales de un compuesto de la invención y/o las formas

tautoméricas correspondientes de estos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, que contienen uno o más centros asimétricos, pueden resolverse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, dicha resolución puede llevarse a cabo (1) mediante la formación de sales, complejos u otros derivados diastereoisoméricos; (2) mediante una reacción selectiva con un reactivo específico del estereoisómero, por ejemplo, mediante oxidación o reducción enzimática; o (3) mediante cromatografía líquida o gas-líquido en un entorno quiral, por ejemplo, en un soporte quiral tal como la sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. El experto en la técnica apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química a través de uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, se requiere otro paso para liberar la forma deseada. Alternativamente, pueden sintetizarse estereoisómeros específicos mediante síntesis asimétrica al utilizar reactivos, sustratos, catalizadores o disolventes ópticamente activos, o al convertir un enantiómero en el otro por transformación asimétrica.

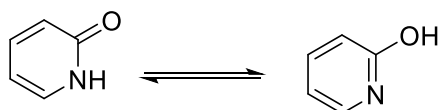
Isótopos

La invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de un compuesto descrito en el presente documento y/o las formas tautoméricas de este o una sal farmacéuticamente aceptable de este. Una variación isotópica de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este o una sal farmacéuticamente aceptable de este, se define como una en la que al menos un átomo se reemplaza por un átomo que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica diferente de la masa atómica que suele encontrarse en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Determinadas variaciones isotópicas de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este o una sal o solvato de este, por ejemplo, aquellas en las que un isótopo radiactivo, tal como ^3H o ^{14}C se incorpora, son útiles en estudios de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Los isótopos tritiados, es decir, ^3H , y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos tales como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una semivida *in vivo* aumentada o necesidades de dosificación reducida y, por lo tanto, puede ser preferible en algunas circunstancias. Las variaciones isotópicas de un compuesto de la invención y/o las formas tautoméricas correspondientes de este o una sal farmacéuticamente aceptable de este, generalmente se pueden preparar mediante procedimientos convencionales, tales como los métodos ilustrativos o mediante las

preparaciones descritas en los Ejemplos a continuación usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

Tautómeros

Además, los compuestos de la invención pueden existir como tautómeros o en formas tautoméricas. Debe entenderse que cualquier referencia a un compuesto nombrado o a un compuesto representado estructuralmente pretende abarcar todos los tautómeros de dicho compuesto. En las técnicas químicas se entiende convencionalmente que los tautómeros son isómeros estructurales o constitucionales de compuestos químicos que se interconvierten fácilmente. Esta reacción habitualmente da como resultado la reubicación de un protón. Un isómero estructural, o isómero constitucional (según IUPAC), es un tipo de isómero en el que moléculas con la misma fórmula molecular tienen diferentes patrones de enlace y organización atómica, a diferencia de los estereoisómeros, en los que los enlaces moleculares están siempre en el mismo orden y solo difiere la disposición espacial. El concepto de tautomerización se llama tautomerismo. La reacción química que interconvierte a ambos se llama tautomerización. Se debe tener cuidado de no confundir los tautómeros con las representaciones de las “estructuras contribuyentes” en la resonancia química. Los tautómeros son especies químicas distintas y pueden identificarse como tales por sus diferentes datos espectroscópicos, mientras que las estructuras de resonancia son meras representaciones convenientes y no existen físicamente. Por ejemplo, el anillo de 2-piridona presenta tautomerismo, donde el protón unido al nitrógeno puede pasar al oxígeno para proporcionar la forma tautomérica 2-hidroxipiridina:



Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención o un tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, según una cualquiera de las modalidades divulgadas en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable (también denominado transportadores y/o diluyentes en las técnicas farmacéuticas). Los excipientes son aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de estos (es decir, el paciente).

Un excipiente farmacéuticamente aceptable es no tóxico y no debe interferir con la eficacia del principio activo. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados varían

según la forma farmacéutica elegida, la vía de administración, etcétera. Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, transportadores, cargas, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, deslizantes, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, solventes, cosolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes saborizantes, agentes de enmascaramiento del sabor, agentes colorantes, agentes antiaglomerantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes que aumentan la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizadores, tensioactivos y agentes tamponantes. Ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables se describen, p. ej., en REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Publishing Company), THE HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL ADDITIVES (Gower Publishing Limited) y en THE HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas pueden adaptarse para administración mediante cualquier vía conveniente o adecuada, por ejemplo, mediante administración sistémica (p. ej., administración oral, administración parenteral, administración transdérmica, administración rectal, inhalación), administración tópica, etc. La administración parenteral es típicamente mediante inyección o infusión e incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular y subcutánea. Inhalación se refiere a la administración en los pulmones del paciente, ya sea inhalada a través de la boca o a través de las vías nasales. Normalmente, la administración es a través de la vía oral o vía parenteral, tal como la vía intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración oral pueden presentarse como formas farmacéuticas sólidas, tales como comprimidos, cápsulas, caplets, trociscos, píldoras; polvos; o formas farmacéuticas líquidas, tales como soluciones, suspensiones, jarabes, elixires, o emulsión, etcétera. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral pueden presentarse como soluciones, suspensiones y polvos para reconstitución.

En algunas modalidades, una composición farmacéutica de la invención se formula para la administración oral. En otras modalidades, una composición farmacéutica de la invención se formula para la administración intravenosa.

En general, las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan con materiales y técnicas convencionales, tales como mezclado, combinación y similares. Algunos de los métodos frecuentemente usados en la técnica se describen en Remington's

Pueden prepararse formas farmacéuticas orales sólidas, tales como comprimidos y cápsulas mediante el mezclado de un compuesto de la invención con excipientes tales como diluyentes y cargas (p. ej., almidón, lactosa, sacarosa, carbonato de calcio, fosfato de calcio y similares), aglutinantes (p. ej., almidón, goma de acacia, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa cristalina y similares), lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco y similares), y similares. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral pueden ser una solución inyectable preparada a partir de polvos, gránulos o comprimidos mediante el mezclado con un transportador, tal como agua destilada, solución salina y similares, y para ajustar el pH puede usarse base y similares.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende de 0,5 mg a 1000 mg de un compuesto de la invención y de 0,5 mg a 1000 mg de un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención como se definen en el presente documento pueden administrarse una sola vez o según un esquema posológico, cuando se administran varias dosis a intervalos de tiempo variables durante un periodo de tiempo determinado. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una, dos, tres o cuatro veces al día. Las dosis pueden administrarse hasta que se logre el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para mantener el efecto terapéutico deseado. Las dosis de los compuestos de la invención pueden estar en el intervalo de 0,001 mg/kg y 100 mg/kg, tal como 0,001 mg/kg y 50 mg/kg. Preferentemente, la dosis seleccionada se administra por vía oral o parenteral.

De conformidad con otro aspecto de la invención, se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica que comprende mezclar (o combinar) un compuesto de la invención o un tautómero de este o una sal de este (p. ej., una sal farmacéuticamente aceptable de este) con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Esquemas sintéticos y métodos generales de preparación

La invención también se refiere a los procesos utilizados para preparar compuestos de la invención divulgada en el presente documento. Los compuestos de la invención pueden elaborarse mediante cualquier cantidad de procesos al utilizar síntesis orgánicas

convencionales como se describe en los Esquemas a continuación y más específicamente como se ilustra por los compuestos ejemplares que siguen a continuación en la sección de Ejemplos en el presente documento, o al recurrir a los conocimientos de un químico orgánico experto. En los siguientes esquemas generales de reacción se representan vías sintéticas adecuadas. Los procedimientos de síntesis proporcionados en los siguientes esquemas son aplicables para producir compuestos de la invención divulgados en el presente documento, que tienen una o más de una serie de grupos funcionales diferentes como se definen que emplean precursores apropiados.

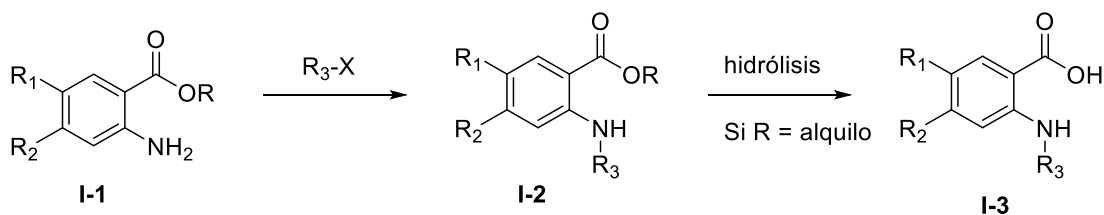
Los expertos en la técnica apreciarán que, en la preparación de los compuestos de la invención, puede ser necesario y/o deseable proteger uno o más grupos sensibles de la molécula o el producto intermedio apropiado para prevenir reacciones adversas indeseables. El experto apreciará que, si un sustituyente descrito en el presente documento no es compatible con los métodos de síntesis descritos en el presente documento, el sustituyente puede protegerse con un grupo protector adecuado que sea estable frente a las condiciones de reacción. El grupo protector puede retirarse en un momento adecuado de la secuencia de reacción para obtener un compuesto intermedio u objetivo deseados. Los grupos protectores adecuados para usar según la presente invención son muy conocidos por los expertos en la técnica y pueden usarse de manera convencional. Véase, por ejemplo, "Protective Groups in Organic Synthesis" por T.W. Green y P.G.M Wets (Wiley & Sons, 1991) o "Protecting Groups" por P. J. Kocienski (Georg Thieme Verlag, 1994). La posterior desprotección, en caso de ser necesario, ofrece compuestos de la naturaleza generalmente divulgada. En ciertas instancias, un sustituyente puede seleccionarse específicamente para ser reactivo en las condiciones de reacción usadas. En estas circunstancias, las condiciones de reacción convierten el sustituyente seleccionado en otro sustituyente que es útil como compuesto intermedio o es un sustituyente deseado en un compuesto objetivo.

Si bien los Esquemas que se muestran a continuación son representativos de los métodos para preparar compuestos de la invención, solo pretenden ser ilustrativos de los procesos que pueden usarse para preparar los compuestos de la invención. Los intermedios (compuestos usados en la preparación de los compuestos de la invención) también pueden estar presentes como sales. Así, en referencia a los intermedios, la frase "compuestos de fórmula (número)" significa un compuesto que tiene esa fórmula estructural o una sal farmacéuticamente aceptable de este. Los nombres de los compuestos se generaron mediante el programa de nomenclatura de *software* ChemDraw 5 Ultra v16.0, disponible de Perkin Elmer, 940 Winter Street, Waltham, Massachusetts, 02451, EE. UU.

En los siguientes Esquemas y Ejemplos se ilustran varios métodos para preparar los compuestos de esta invención. Los materiales de partida están disponibles comercialmente o se elaboran mediante procedimientos conocidos en la bibliografía o como se ilustra.

Esquemas sintéticos generales

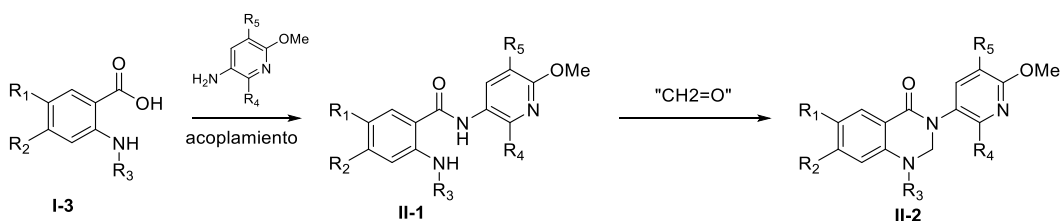
5 Esquema I



La preparación de los compuestos de la invención comienza normalmente la síntesis de derivados de N-sustituidos-2-aminoaromáticos I-3 (Esquema I). La arilación del nitrógeno de anilina con un haluro de arilo adecuado puede lograrse mediante el uso de un catalizador de metal de transición, tal como $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ o Cu/CuO , un ligando apto, tal como BINAP o Xanteno y una base inorgánica, tal como Cs_2CO_3 o K_2CO_3 en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano. En algunos casos donde $\text{X} = \text{F}$, la conversión puede lograrse por medio de una reacción de $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$ en presencia de una base, tal como diisopropiletilamina (DIPEA) en un disolvente apropiado, tal como dimetilformamida (DMF).

En cada uno de los productos intermedios I-1, I-2 y I-3 en el Esquema I, cada uno de R_1 y R_2 es independientemente halo (p. ej., $-\text{F}$ o $-\text{Cl}$) o haloalquilo- (p. ej., $-\text{CF}_3$); R_3 , donde está presente, es fenilo opcionalmente sustituido; y R es H o alquilo.

Esquema II

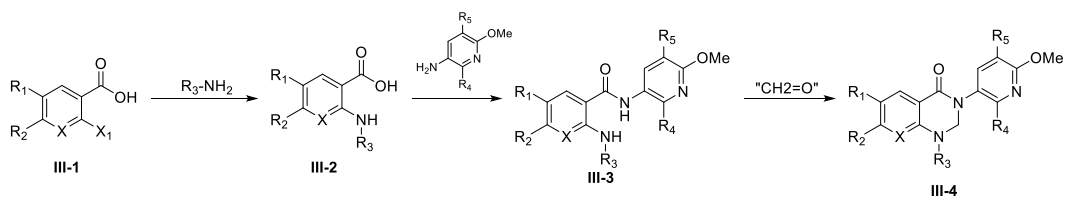


Los derivados de ácido N-sustituido-2-aminoaromático de productos intermedios I-3, preparados como se ilustra en el Esquema I, pueden convertirse en II-1 por acoplamiento de I-3 con un aril- NH_2 adecuado, por ejemplo 2-metoxi-4-aminopiridina, en varias condiciones de acoplamiento conocidas por los expertos en la técnica; esto proporciona la amida

correspondiente **II-1** (Esquema II). Por ejemplo, podrían emplearse reactivos de acoplamiento estándar, tales como EDC/HOBT, HATU, HBTU o T_3P , en presencia de una base de amina, tal como trietilamina o base de Hünig (diisopropiletilamina), en un disolvente adecuado, normalmente DMF, DMA o acetonitrilo. Alternativamente, el ácido podría convertirse al cloruro de ácido correspondiente, con un reactivo, tal como cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo, después el cloruro de ácido se haría reaccionar con un arilo- NH_2 adecuado (tal como 2-metoxi-4-aminopiridina), en presencia de un secuestrante ácido o base, tal como piridina, 2,6-lutidina, trietilamina o base de Hünig, en un disolvente apropiado, tal como diclorometano o piridina, para obtener el producto de acoplamiento deseado **II-1**. La formación del sistema de anillos de dihidroquinazolina, como en **II-2**, implica la reacción de **II-1** con formaldehído o un equivalente adecuado. Por ejemplo, la reacción puede lograrse con formaldehído, ya sea formaldehído gaseoso, paraformaldehído o s-trioxano, en presencia de un ácido, preferentemente PTSA o ácido sulfúrico. Alternativamente, el sistema de anillos de dihidroquinazolina puede formarse por medio de la reacción de **II-1** con diyodometano o cloroyodometano como equivalente de formaldehído. En esta variante de la reacción de ciclación, podría usarse una base, normalmente Cs_2CO_3 o NaH , en un disolvente adecuado, a menudo, acetonitrilo o DMF. La elección de usar formaldehído o diyodometano depende de las características particulares de reactividad del sustrato **II-1**.

En cada uno de los productos intermedios I-3, II-1 y II-2 en el Esquema I, cada uno de R_1 y R_2 es independientemente halo (p. ej., $-F$ o $-Cl$) o haloalquilo- (p. ej., $-CF_3$); R_3 , es fenilo opcionalmente sustituido, y cada uno de R_4 y R_5 es independientemente hidrógeno o $-CH_3$.

Esquema III

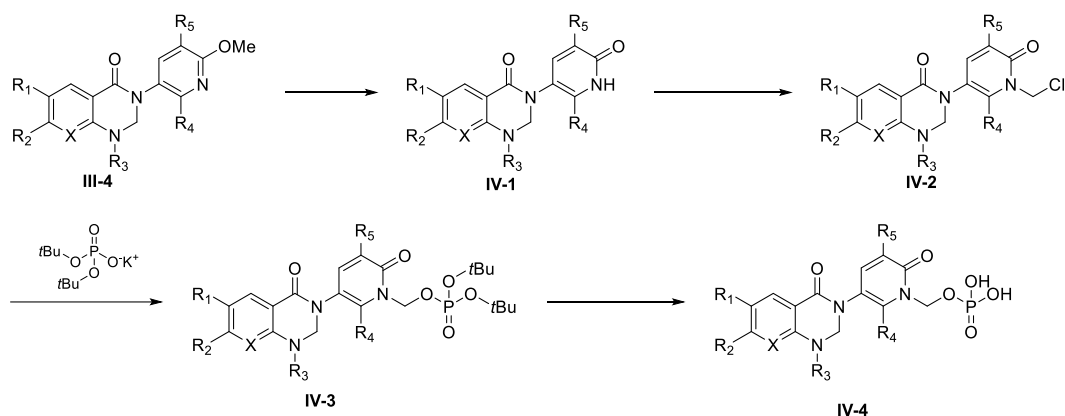


En una variación de los métodos descritos en el Esquema I y II, los compuestos pueden prepararse como se ilustra en el Esquema III. En cuanto a los ácidos 2-halo (**III-1**; $X_1 = Cl, Br$ o I), es posible emplear reacciones con un nucleófilo de anilina o amina adecuada, para obtener **III-2**, normalmente bajo temperaturas elevadas con calentamiento estándar o irradiación de microondas, en presencia de un catalizador, por ejemplo, $Pd_2(dba)_3$ o Cu/CuO , un ligando adecuado, por ejemplo BINAP o Xanteno y una base inorgánica, normalmente Cs_2CO_3 o K_2CO_3 , en un disolvente apropiado, tal como 1,4-dioxano, tolueno o 2-etoxietanol.

En algunos casos donde $X_1 = F$, la conversión puede lograrse a través de una reacción de S_NAr en presencia de una base, por ejemplo, DIPEA en un disolvente apropiado, tal como DMF. La conversión de **III-2** a **III-3** y en última instancia a **III-4** puede lograrse conforme se describe en el Esquema II.

- 5 En cada uno de los productos intermedios **III-1**, **III-2**, **III-3** y **III-4** en el Esquema I, cada uno de R_1 y R_2 es independientemente halo (p. ej., -F o -Cl) o haloalquilo- (p. ej., -CF₃); R_3 , donde está presente, es fenilo opcionalmente sustituido; cada uno de R_4 y R_5 es independientemente hidrógeno o -CH₃; y X es CH o N.

Esquema IV



10

- Como se muestra en el Esquema IV, la transformación del compuesto **III-4** en la piridona **IV-1** se puede lograr haciendo reaccionar el compuesto **III-4** con una mezcla de cloruro de TMS y NaI, o una solución de yoduro de TMS, en un solvente neutro como acetonitrilo, a temperatura elevada. El compuesto **IV-1** se puede hacer reaccionar con
- 15 cloroformiato de clorometilo en presencia de una base orgánica tal como DABCO en solventes adecuados tales como EtOAc y DMF para proporcionar la clorometilpiridona **IV-2**. La reacción del compuesto **IV-2** con fosfato de di-*tert*-butilo y potasio en presencia de un catalizador de transferencia de fase, tal como TBAI en solvente DMF a temperatura elevada, proporciona el compuesto **IV-3**. La eliminación de los grupos protectores de *tert*-butilo en condiciones ácidas,
- 20 tales como ácido acético en acetonitrilo y agua, proporciona los compuestos profármaco de la invención.

- En cada uno de los intermedios **III-4**, **IV-1**, **IV-2**, **IV-3** y **IV-4** en el Esquema IV, cada uno de R_1 y R_2 es independientemente halo (p. ej., -F o -Cl) o haloalquilo- (p. ej., -CF₃); R_3 es fenilo opcionalmente sustituido; cada uno de R_4 y R_5 es independientemente hidrógeno o -
- 25 CH₃; y X es CH o N.

Métodos/Usos

En general, la invención también se refiere a usos de los compuestos y/o composiciones farmacéuticas descritos en el presente documento para usar como medicamento o para usar en terapia.

5 Los compuestos de la invención como se definen en el presente documento son inhibidores de canales de iones de sodio regulados por voltaje, y particularmente el canal de iones de sodio regulado por voltaje $Na_v1.8$. La actividad de un compuesto usado en esta invención como inhibidor de $Na_v1.8$ puede evaluarse según los métodos descritos en general en los Ejemplos del presente documento, o según los métodos disponibles para aquellos con
10 capacidades en la técnica.

En un aspecto, la invención se refiere a los usos de compuestos y composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento como inhibidores de canales de iones de sodio dependientes de voltaje, particularmente $Na_v1.8$.

En una modalidad, la invención se refiere a un método de inhibición de un canal de
15 iones de sodio regulado por voltaje en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento. En otra modalidad, el canal de sodio regulado por voltaje es $Na_v1.8$.

En una modalidad, la invención se refiere a un compuesto de la invención o una
20 composición farmacéutica de la invención para usar en la inhibición de un canal de iones de sodio regulado por voltaje. En otra modalidad, el canal de sodio regulado por voltaje es $Na_v1.8$.

En una modalidad, la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para inhibir un canal de iones de sodio regulado por voltaje. En otra modalidad, el canal de sodio
25 regulado por voltaje es $Na_v1.8$.

Sin atenerse a teoría alguna en particular, los compuestos y composiciones de la invención son particularmente útiles para tratar una enfermedad, afección o trastorno donde la activación o hiperactividad de $Na_v1.8$ está implicada en la enfermedad, afección o trastorno. Cuando la activación o hiperactividad de $Na_v1.8$ está implicada en una enfermedad, afección
30 o trastorno en particular, la enfermedad, afección o trastorno también puede denominarse “enfermedad, afección o trastorno mediados por $Na_v1.8$ ”. Algunos ejemplos de enfermedades, afecciones y trastornos mediados por $Na_v1.8$ incluyen dolor y enfermedades asociadas con el dolor, y enfermedades cardiovasculares, tales como fibrilación auricular.

Según modalidades de la invención, una enfermedad asociada con el dolor es dolor

causado por una cualquiera de una o más de una serie de enfermedades de etiologías variables como se describe a lo largo de la divulgación. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático, dolor crónico, dolor agudo, dolor nociceptivo, dolor inflamatorio, dolor musculoesquelético, dolor visceral, dolor por cáncer, dolor idiopático, esclerosis múltiple, síndrome de Charcot-Marie-Tooth, o incontinencia.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático o dolor neuropático crónico. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático o dolor neuropático crónico seleccionado de neuropatía de fibras pequeñas, neuropatía diabética mediada por fibras pequeñas, neuropatía idiopática de fibras pequeñas, neuropatía diabética dolorosa o polineuropatía.

En algunas modalidades el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático seleccionado de neuralgia posherpética, neuralgia diabética, neuropatía sensorial dolorosa asociada con el HIV, neuralgia del trigémino, síndrome de la boca ardiente, dolor después de una amputación, dolor fantasma, neuroma doloroso, neuroma traumático, neuroma de Morton, lesión por atrapamiento nervioso, estenosis espinal, síndrome del túnel carpiano, dolor radicular, dolor por ciática, lesión por avulsión nerviosa, avulsión del plexo braquial, síndrome de dolor regional complejo, neuralgia inducida por terapia farmacológica, neuralgia inducida por quimioterapia oncológica, neuralgia inducida por terapia antirretroviral, dolor después de una lesión de la médula espinal, neuropatía idiopática de fibras pequeñas, neuropatía sensorial idiopática o cefalalgia autonómica del trigémino.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático o dolor neuropático crónico seleccionado de neuropatía periférica diabética, dolor causado por neuropatía, lesión neurológica o neuronal, dolor asociado con lesiones nerviosas, neuralgias y dolor agudo o crónico asociado, neuropatía posherpética, dolor asociado con avulsiones radiculares, mononeuropatía traumática dolorosa, eritromelalgia, trastorno del dolor extremo paroxístico (PEPD), síndrome de la boca ardiente, síndromes de dolor central causados por una lesión del sistema nervioso, lesión nerviosa traumática, compresión o atrapamiento nervioso, insensibilidad congénita al dolor (CIP), dismenorrea, eritromelalgia primaria, neuropatía sensorial periférica del HIV, neuralgia del nervio pudendo, lesión nerviosa espinal, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), síndrome del túnel carpiano y neuropatía vasculítica.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor visceral, donde dolor visceral es dolor por enfermedad inflamatoria intestinal, dolor por

enfermedad de Crohn o dolor por cistitis intersticial.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor musculoesquelético, donde dolor musculoesquelético es dolor por osteoartritis, dolor de espalda, dolor por frío, dolor por quemaduras o dolor dental.

- 5 En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor idiopático, donde dolor idiopático es dolor por fibromialgia.

- 10 En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor crónico o agudo preoperatorio o dolor crónico o agudo posoperatorio. El dolor posoperatorio incluye dolor posoperatorio ambulatorio. Cirugía ambulatoria, también conocida como cirugía externa, se refiere a la cirugía en el mismo día que no requiere una estancia nocturna en un hospital u otro centro médico. En algunas modalidades, el dolor preoperatorio se selecciona de dolor neuropático o dolor neuropático crónico, dolor por osteoartritis crónica, dolor dental o dolor inflamatorio. En algunas modalidades, el dolor posoperatorio se selecciona de dolor por
- 15 bunionectomía, dolor por reparación de hernia, dolor por cirugía mamaria o dolor por cirugía estética.

- 20 En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor causado por traumatismo o procedimientos médicos o dentales iatrogénicos. Como se usa en el presente documento, el término “iatrogénico” se refiere al dolor inducido involuntariamente por personal médico o dental, tal como cirujano o dentista, durante tratamientos o procedimientos de diagnóstico médicos o dentales, que incluyen, a mero título enunciativo, dolor causado por procedimientos médicos o dentales preoperatorios (es decir, “antes”), perioperatorios (es decir, “durante” o dolor inducido médicamente durante tratamientos no quirúrgicos u operatorios) y posoperatorios (es decir, después, dolor inducido posoperatorio o quirúrgico).

- 25 En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor nociceptivo, donde dolor nociceptivo es dolor posquirúrgico, dolor por cáncer, dolor de espalda y craneofacial, dolor por osteoartritis, dolor dental o neuropatía periférica diabética.

- 30 En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor inflamatorio. El dolor inflamatorio puede ser dolor de orígenes fisiológicos variados. En algunas modalidades, el dolor inflamatorio se selecciona de dolor asociado con osteoartritis, artritis reumatoide, trastorno reumático, tenosinovitis y gota, tendinitis o bursitis de hombro,

artritis gotosa, y polimialgia reumática, hiperalgesia primaria, hiperalgesia secundaria, alodinia primaria, alodinia secundaria, u otro dolor causado por sensibilidad central, síndrome de dolor regional complejo, dolor artrítico crónico y neuralgias relacionadas o dolor agudo. En algunas modalidades el dolor inflamatorio se selecciona de dolor asociado con artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis reumatoide, artritis gotosa o artritis juvenil. En algunas modalidades, el dolor inflamatorio se selecciona de artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, artritis gotosa, artritis juvenil, trastorno reumático, gota, tendinitis o bursitis de hombro, polimialgia reumática, hiperalgesia primaria, hiperalgesia secundaria, alodinia primaria, alodinia secundaria, u otro dolor causado por sensibilización central, síndrome de dolor regional complejo, dolor artrítico crónico o agudo y neuralgias relacionadas. En algunas modalidades, el dolor inflamatorio es dolor por artritis reumatoide o vulvodinia.

En algunas modalidades, el dolor inflamatorio es osteoartritis, dolor crónico por osteoartritis (p. ej., cadera o rodilla) o polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor musculoesquelético. En algunas modalidades, el dolor musculoesquelético se selecciona de dolor óseo y articular, osteoartritis, dolor lumbar y de cuello, o dolor resultante de traumatismo físico o amputación. En algunas modalidades, el dolor musculoesquelético se selecciona de dolor óseo y articular, osteoartritis (p. ej., rodilla, cadera), tendinitis (p. ej., hombro), bursitis (p. ej., hombro), tenosinovitis, dolor lumbar y de cuello, esguinces, distensiones, o dolor resultante de traumatismo físico o amputación.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es lesión neurológica o neuronal asociada o trastornos relacionados con el dolor causado por enfermedades seleccionadas de neuropatía, dolor asociado con lesión nerviosa, dolor asociado con avulsiones radicales, mononeuropatía traumática dolorosa, polineuropatía dolorosa, eritromelalgia, trastorno del dolor extremo paroxístico (PEPD), síndrome de la boca ardiente; síndromes de dolor central causado por una lesión del sistema nervioso); lesión nerviosa traumática, compresión o atrapamiento nervioso, insensibilidad congénita al dolor (CIP), dismenorrea, eritromelalgia primaria; neuropatía sensorial periférica del HIV; neuralgia del nervio pudiendo, lesión nerviosa espinal, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), síndrome del túnel carpiano o neuropatía vasculítica.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor causado por traumatismo o dolor causado por procedimientos médicos o dentales iatrogénicos.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor miofascial; miositis o inflamación muscular; dolor por movimiento repetitivo; síndrome de dolor regional complejo; dolor mantenido por el simpático; dolor relacionado con cáncer, toxinas y quimioterapia; síndromes de dolor posquirúrgico y/o dolor de miembro fantasma asociado; dolor por procedimientos o tratamientos médicos o dentales posoperatorios; dolor asociado con el HIV o dolor inducido por el tratamiento del HIV.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad, trastorno o afección asociados con el dolor es dolor neuropático u otra enfermedad asociada con el dolor seleccionados de dolor neuropático periférico, dolor neuropático central, eritromelalgia heredada (IEM), neuralgia de fibras pequeñas (SFN), trastorno del dolor extremo paroxístico (PEPD), neuropatía diabética dolorosa, dolor lumbar crónico, dolor de espalda neuropático, ciática, dolor lumbar no específico, dolor por esclerosis múltiple, neuropatía relacionada con el HIV, neuralgia posherpética, neuralgia del trigémino, vulvodinia, dolor resultante de traumatismo físicos, dolor después de la amputación de un miembro, dolor por neuroma, dolor de miembros fantasma, cáncer, toxinas o afecciones inflamatorias crónicas.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor agudo, dolor crónico, dolor neuropático, dolor inflamatorio, artritis, migraña, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, epilepsia, afecciones epilépticas, trastornos neurodegenerativos, trastornos psiquiátricos, ansiedad, depresión, trastorno dipolar, miotonía, arritmia, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, esclerosis múltiple, síndrome del intestino irritable, incontinencia, dolor visceral, dolor por osteoartritis, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, dolor radicular, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza, dolor de cuello, dolor intenso, dolor intratable, dolor nociceptivo, dolor irruptivo, dolor posquirúrgico, dolor por cáncer, accidente cerebrovascular, isquemia cerebral, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral amiotrófica, angina inducida por estrés, angina inducida por ejercicio, palpitaciones, hipertensión, o motilidad gastrointestinal anormal.

En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor por cáncer de fémur, dolor óseo crónico no maligno, artritis reumatoide, osteoartritis, estenosis espinal, dolor lumbar neuropático, síndrome de dolor miofascial, fibromialgia, dolor de articulación temporomandibular, dolor visceral crónico, dolor abdominal, dolor pancreático, dolor IBS, dolor de cabeza crónico y agudo, migraña, dolor de cabeza tensional, incluidos dolores de cabeza en racimo, dolor neuropático crónico y agudo, neuralgia posherpética,

neuropatía diabética, neuropatía asociada con el HIV, neuralgia del trigémino, neuropatía de Charcot-Marie-Tooth, neuropatías sensoriales hereditarias, lesión nerviosa periférica, neuromas dolorosos, descargas ectópicas proximales y distales, radiculopatía, dolor neuropático inducido por quimioterapia, dolor neuropático inducido por radioterapia, dolor después de una mastectomía, dolor central, dolor de la médula espinal, dolor después de un accidente cerebrovascular, dolor talámico, síndrome de dolor regional complejo, dolor fantasma, dolor intratable, dolor agudo, dolor posoperatorio agudo, dolor musculoesquelético agudo, dolor articular, dolor mecánico lumbar, dolor de cuello, tendinitis, dolor por lesiones/ejercicio, dolor visceral agudo, pielonefritis, apendicitis, colecistitis, obstrucción intestinal, hernias, dolor torácico, dolor cardíaco, dolor pélvico, dolor por cólico renal, dolor obstétrico agudo, dolor por parto, dolor por cesárea, dolor inflamatorio agudo, por quemaduras y traumatismo, dolor intermitente agudo, endometriosis, dolor agudo por herpes zóster, anemia de células falciformes, pancreatitis aguda, dolor irruptivo, dolor orofacial incluido dolor por sinusitis, dolor dental, dolor por esclerosis múltiple (MS), dolor en depresión, dolor por lepra, dolor por enfermedad de Behcet, adiposis dolorosa, dolor flebítico, dolor de Guillain-Barre, dolor en las piernas y movimiento de los dedos de los pies, síndrome de Haglund, dolor por eritromelalgia, dolor por enfermedad de Fabry, enfermedad de vejiga y urogenital, incluida incontinencia urinaria, hiperactividad de vejiga, síndrome de vejiga dolorosa, cistitis intersticial (CI), prostatitis, síndrome de dolor regional complejo (CRPS) (tipo I y tipo II), dolor generalizado, dolor del extremo paroxístico, pruritis, tinnitus, o dolor inducido por angina.

En otro aspecto, la invención se refiere a usos de compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención en métodos y medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, incluidas fibrilación auricular y arritmias cardíacas.

En algunas modalidades, una enfermedad cardiovascular es fibrilación auricular, ya sea de naturaleza idiopática o causada por una enfermedad como se define en el presente documento. La fibrilación auricular puede ser fibrilación auricular paroxística, fibrilación auricular sostenida, fibrilación auricular de larga data, fibrilación auricular con insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular con enfermedad de las válvulas cardíacas, o fibrilación auricular con enfermedad renal crónica. En modalidades particulares, la fibrilación auricular se selecciona de fibrilación auricular paroxística, sostenida o de larga data.

En algunas modalidades, una enfermedad cardiovascular incluye arritmias cardíacas.

Por lo tanto, en otro aspecto, la invención también proporciona un método de tratamiento en un sujeto, especialmente en un ser humano. Los estados de enfermedad que

pueden tratarse a través de los métodos y las composiciones proporcionados en el presente documento incluyen, a mero título enunciativo, dolor y enfermedades asociadas con el dolor, y enfermedades cardiovasculares.

5 El término “tratamiento” se refiere a aliviar la afección especificada, eliminar o reducir uno o más síntomas de la afección, ralentizar o eliminar la progresión de la afección y retrasar la reaparición de la afección en un paciente o sujeto previamente afectado.

10 Como se usa en el presente documento, “cantidad eficaz” y “cantidad terapéuticamente eficaz” se usan indistintamente. El término “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto de la invención o un tautómero de este, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, que provocará la respuesta biológica deseada en el cuerpo humano. Puede variar en función del compuesto, de la enfermedad y su gravedad, y de la edad y el peso del sujeto a tratar.

El término “sujeto” hace referencia a un cuerpo humano.

15 En un aspecto, la invención se refiere a un método de tratamiento del dolor o una enfermedad asociada con el dolor, tal como se define en el presente documento en un humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

20 En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento del dolor agudo o dolor crónico en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

25 En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento del dolor causado por traumatismo, dolor causado por procedimientos médicos o dentales iatrogénicos, o dolor preoperatorio o posoperatorio en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

30 En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento del dolor neuropático, dolor nociceptivo, dolor inflamatorio, dolor musculoesquelético, dolor visceral, o dolor idiopático en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento del dolor neuropático o dolor neuropático crónico seleccionado del grupo que consiste en neuropatía de fibras pequeñas, neuropatía diabética mediada por fibras pequeñas, neuropatía idiopática de fibras pequeñas, neuropatía diabética dolorosa y polineuropatía en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento del dolor inflamatorio seleccionado del grupo que consiste en osteoartritis, dolor crónico por osteoartritis, o polineuropatía inflamatoria crónica desmielinizante en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento.

En una modalidad, se proporciona un método de tratamiento de un dolor o una enfermedad asociada al dolor seleccionada del grupo que consiste en dolor neuropático, dolor posoperatorio ambulatorio y osteoartritis en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático crónico. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es neuropatía de fibras pequeñas. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor postoperatorio ambulatorio. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis de rodilla y/u osteoartritis de cadera.

En otro aspecto, la invención proporciona compuestos de la invención y composiciones farmacéuticas de la invención como se describe en el presente documento para usar en el tratamiento del dolor o una enfermedad asociada con el dolor como se define en el presente documento.

En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor agudo o dolor crónico.

En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor causado por traumatismo, dolor causado por procedimientos médicos o dentales iatrogénicos, o dolor preoperatorio o

posoperatorio.

En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor neuropático, dolor nociceptivo, dolor inflamatorio, dolor musculoesquelético, dolor visceral, o dolor idiopático.

5 En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor neuropático o dolor neuropático crónico seleccionado del grupo que consiste en neuropatía de fibras pequeñas, neuropatía diabética mediada por fibras pequeñas, neuropatía idiopática de fibras pequeñas, neuropatía diabética dolorosa y polineuropatía.

10 En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor inflamatorio seleccionado del grupo que consiste en osteoartritis, dolor por osteoartritis crónica y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica.

15 En una modalidad, se proporciona un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento del dolor o de una enfermedad asociada con el dolor seleccionada del grupo que consiste en dolor neuropático, dolor posoperatorio ambulatorio y osteoartritis. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático crónico. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es neuropatía de fibras pequeñas. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor postoperatorio ambulatorio. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis de rodilla y/u osteoartritis de cadera.

25 En otro aspecto, la invención también proporciona usos de compuestos de la invención o composiciones farmacéuticas de la invención como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor y enfermedades asociadas con el dolor como se describe en el presente documento.

30 En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor agudo o dolor crónico.

En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor causado por traumatismo, dolor causado por procedimientos médicos o dentales iatrogénicos, o dolor preoperatorio o posoperatorio.

- 5 En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor neuropático, dolor nociceptivo, dolor inflamatorio, dolor musculoesquelético, dolor visceral, o dolor idiopático.

- 10 En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor neuropático o dolor neuropático crónico seleccionado del grupo que consiste en neuropatía de fibras pequeñas, neuropatía diabética mediada por fibras pequeñas, neuropatía idiopática de fibras pequeñas, neuropatía diabética dolorosa y polineuropatía.

- 15 En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor inflamatorio seleccionado del grupo que consiste en osteoartritis, dolor por osteoartritis crónica y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica.

- 20 En una modalidad, se proporciona el uso de un compuesto de la invención o composición farmacéutica de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor o de una enfermedad asociada con el dolor seleccionada del grupo que consiste en dolor neuropático, dolor posoperatorio ambulatorio y osteoartritis. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor neuropático crónico. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es neuropatía de fibras pequeñas. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es dolor postoperatorio ambulatorio. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis. En algunas modalidades, el dolor o una enfermedad asociada con el dolor es osteoartritis de rodilla y/u osteoartritis de cadera.

- 30 En un aspecto, la invención se refiere a un método de tratamiento de la fibrilación auricular como se define en el presente documento en un humano que lo necesita, que comprende administrar al humano un compuesto de la invención o una composición

farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento. En algunas modalidades, la fibrilación auricular se selecciona del grupo que consiste en fibrilación auricular paroxística, fibrilación auricular sostenida, fibrilación auricular de larga data, fibrilación auricular con insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular con enfermedad de las
5 válvulas cardíacas y fibrilación auricular con enfermedad renal crónica.

En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención para usar en el tratamiento de la fibrilación auricular. En algunas modalidades, la fibrilación auricular se selecciona del grupo que consiste en fibrilación auricular paroxística, fibrilación auricular sostenida, fibrilación auricular de larga
10 data, fibrilación auricular con insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular con enfermedad de las válvulas cardíacas y fibrilación auricular con enfermedad renal crónica.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrilación auricular. En algunas
15 modalidades, la fibrilación auricular se selecciona del grupo que consiste en fibrilación auricular paroxística, fibrilación auricular sostenida, fibrilación auricular de larga data, fibrilación auricular con insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular con enfermedad de las válvulas cardíacas y fibrilación auricular con enfermedad renal crónica.

En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la invención o una
20 composición farmacéutica de la invención como se describe en el presente documento para usar en terapia.

Tratamiento combinado

Los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la invención divulgados en el presente documento se pueden combinar o coadministrar con otros agentes terapéuticos, en
25 particular agentes que pueden aumentar la actividad o el tiempo de disposición de los compuestos. Las terapias de combinación según la invención comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención y el uso de al menos otro método de tratamiento, incluida la administración de uno o más agentes terapéuticos.

El término “coadministración”, y derivados de este, como se usa en el presente
30 documento, se refiere a la administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada de un compuesto inhibidor de $Na_v1.8$ de la invención, como se describe

en el presente documento, y otro principio activo. Otro principio activo incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido o que demuestre propiedades ventajosas cuando se administra a un humano que necesita tratamiento. Típicamente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran con muy poco tiempo de diferencia. Además, los compuestos se pueden administrar en la misma forma farmacéutica o por separado, p. ej., un compuesto puede administrarse por vía oral y otro compuesto puede administrarse por vía intravenosa.

Otros agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con un compuesto de la invención incluyen, a mero título enunciativo, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, inhibidores de Nav1.7, inhibidores de Nav1.9, antidepresivos (es decir, tales como, a mero título enunciativo, duloxetina o amitriptilina), anticonvulsivos (es decir, tales como, a mero título enunciativo, pregabalina y gabapentina), opiáceos (es decir, tales como, a mero título enunciativo, hidrocodona, codicentina, morfina, oxicodona, oximorfona, fentanil, y similares), etc.; y donde la administración de los anteriores, respectivamente, también está determinada por aquellos con capacidades en la técnica. En un aspecto, los inhibidores de Nav1.7 o inhibidores de Nav1.9 adecuados para usar en la invención, incluyen, a mero título enunciativo, los inhibidores de Nav1.7 o inhibidores de Nav1.9 conocidos en la literatura química.

Cada componente de una combinación usada con fines terapéuticos (p. ej., compuesto o composición farmacéutica de la invención y otro agente terapéutico) puede administrarse por vía oral, intravenosa o parenteral o en combinaciones de estas. Cada componente de una combinación terapéutica puede administrarse, a mero título enunciativo, mediante administración simultánea, administración conjunta o administración en serie; y/o por vías de administración o combinaciones de vías de administración idénticas o diferentes. En determinadas modalidades, cada vía de administración o combinaciones de vías de administración idénticas o diferentes se seleccionan de administración oral, intravenosa o parenteral.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención. Estos ejemplos no pretenden limitar el alcance de la invención, sino más bien proporcionar orientación al experto para preparar y usar los compuestos, composiciones y métodos de la invención. Aunque se describen aspectos o modalidades particulares de la invención, el experto apreciará que pueden hacerse varios cambios y modificaciones sin apartarse del alcance y espíritu de la invención.

Ejemplos de síntesis

El experto entenderá que los métodos de purificación (mediante modificadores ácidos o básicos) o los procedimientos de tratamiento de los compuestos (mediante condiciones ácidas o básicas) pueden dar lugar a la formación de una sal de un compuesto del título (por ejemplo, ácido bromhídrico, ácido fórmico, ácido clorhídrico, ácido trifluoroacético, o sales de amonio de un compuesto del título). La invención abarca tales sales.

Los compuestos finales se caracterizaron con GCMS y LCMS (condiciones indicadas a continuación) y NMR. Los espectros de ^1H NMR o ^{19}F NMR se registraron con un espectrómetro Bruker Avance III de 500 MHz, espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz y espectrómetro Varian Mercury Plus 10 de 300 Mhz. CDCl_3 es cloroformo deuterado, DMSO-d_6 es dimetilsulfóxido hexadeuterado y CD_3OD es metanol tetradeuterado. Los corrimientos químicos se informan en partes por millón (ppm) campo abajo del estándar interno tetrametilsilano (TMS) o el solvente de NMR. Las abreviaturas de los datos de NMR son las siguientes: s = singulete, d = doblete, t = triplete, q = cuádruplete, m = multiplete, dd = doblete de doblete, dt = doblete de triplete, app = evidente, br = amplio. J 15 indica la constante de acoplamiento de NMR medida en hercios.

Métodos de HPLC:

Método A: UPLC: Waters Acquity equipado con un CSH de Acquity, C18 (columna de 2,1 mm $\times$ 30 mm, 1,7 μm) usando un gradiente de MeCN/ H_2O al 1 % a 100 %/TFA al 0,1 % durante 1,85 min a un caudal de 1,3 mL/min. Las determinaciones de masa se realizaron usando un Quadrupole MS Agilent 6110 con ESI positiva.

Método B: UPLC: Waters Acquity equipado con un CSH de Acquity, C18 (columna de 2,1 mm $\times$ 30 mm, 1,7 μm) usando un gradiente de MeCN/ H_2O al 1 % a 100 %/10 mM de bicarbonato de amonio al 0,1 % en agua ajustado a un pH 10 con solución de hidróxido de amonio al 25 %, durante 1,85 min a un caudal de 1,3 mL/min. Las determinaciones de masa se realizaron usando un Quadrupole MS Agilent 6110 con ESI positiva.

En las siguientes descripciones experimentales pueden usarse las siguientes abreviaturas:

Abreviatura	Significado
AcOH	ácido acético

ac.	acuoso
BBr_3	tribromuro de boro
BCl_3	tricloruro de boro
BH_3	borano
BINAP	2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno
Bn	bencilo
salmuera	cloruro de sodio acuoso saturado
BuLi o nBuLi	butillitio
CDI	carbonildiimidazol
CH_2Cl_2	cloruro de metileno
CH_3CN	acetonitrilo
COCl_2	cloruro de oxalilo
Cs_2CO_3	carbonato de cesio
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2. 2]octano
DCC	diciclohexilcarbodiimida
DCM o CH_2Cl_2	cloruro de metileno
DEAD	azodicarboxilato de dietilo
DEAP	dietil aminopiridina
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
DIPEA, DIEA, base de Hunig	N,N-diisopropiletilamina
DMA	Dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DME	dimetoxietano
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC	clorhidrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida
Et	etilo
Et_3N	triethylamina
Et_2O	dietil éter

EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
Fmoc o fmoc	fluorenilmetiloxycarbonilo
g, G, gm, GM	gramo
GCMS	cromatografía de gases-espectroscopia de masa
h	horas
H ₂	hidrógeno
HCl	Ácido clorhídrico
H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno
H ₂ O	agua
H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
HATU	hexafluorofosfato de (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio)
HBTU	hexafluorofosfato(V) de 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilisouronio
HCl	ácido clorhídrico
HCO ₂ H	ácido fórmico
HOBt u HOBT	1-hidroxibenzotriazol
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
Hz	hercios
I ₂	Yodo
IPA	Alcohol isopropilo
JLR	reactor encamisado para laboratorio
K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
KHSO ₄	hidrogenosulfato de potasio
KOAc	acetato de potasio
L o l	litro
LAH	hidruro de litio y aluminio
LCMS	cromatografía líquida-espectroscopia de masa
LDA	diisopropilamida de litio
LED	diodo emisor de luz

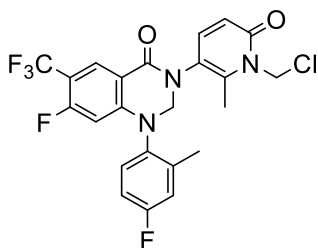
LiOH	hidróxido de litio
LHMDS	bis(trimetilsilil)amida de litio
mCPBA	ácido meta-cloroperoxibenzoico
MDAP	autodepuración masiva dirigida
Me	metilo
MeOH	metanol
mg, MG	miligramo
MgBr ₂	bromuro de magnesio
MgSO ₄	sulfato de magnesio
Mhz	megahercios
Min	minutos
ml o mL o mL	mililitro
mmol	milimol
MnO ₂	dióxido de manganeso
Mol, mol	mol
MS	espectro de masas
MTBE	metil <i>tert</i> -butil éter
μw	microondas
N ₂	nitrógeno
Na(CN)BH ₃	cianoborohidruro de sodio
NaCl	cloruro de sodio
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
NaHCO ₃	bicarbonato de sodio
NaHMDS	bis(trimetilsilil)amida de sodio
NaHSO ₃	bisulfito de sodio
NaH	hidruro de sodio
NaI	yoduro de sodio
NaOH	hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₃	sulfito de sodio

Na ₂ SO ₄	sulfato de sodio
NH ₄ Cl	cloruro de amonio
HCO ₂ •NH ₄	formiato de amonio
NH ₄ OH	hidróxido de amonio
nm	nanómetro
NMO	N-óxido de 4-metilmorfolina
NMP	N-metil-2-pirrolidona
NMR	resonancia magnética nuclear
Pd/C	paladio sobre carbono
PdCl ₂ (dbpf)	1,1'-bis(di- <i>tert</i> -butilfosfino)ferroceno dicloropaladio
Pd(dppf)Cl ₂ /PdCl ₂ (dppf)	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaladio(II)
aducto PdCl ₂ (dppf)-CH ₂ Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaladio(II), complejo con diclorometano
Pd ₂ (dba) ₃	tris(dibencilideneacetona)dipaladio(0)
tetrakis Pd(Ph ₃) ₄	tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
PdOAc ₂ o Pd(OAc) ₂	acetato de paladio
Pd(OH) ₂	hidróxido de paladio
PIFA	[Bis(trifluoroacetoxi)yodo]benceno
Ph	fenilo
PL HCO ₃ MP	hidrogenocarbonato soportado sobre poliestireno macroporoso
POCl ₃	cloruro de fosforilo
psi	libras por pulgada cuadrada
PTFE	politetrafluoroetileno
PTSOH o PTSA o pTsoH	ácido <i>p</i> -toluensulfónico
rt o RT	temperatura ambiente
sat.	saturado
SFC	cromatografía de fluidos supercríticos
Si	sílice
Si SPE	cartuchos de gel de sílice
SiO ₂	gel de sílice

SPE	extracción en fase sólida
T3P®	anhídrido propilfosfónico
tBu o t-Bu	grupo <i>tert</i> -butilo
TBAB	bromuro de tetrabutilamonio
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
TBAI	yoduro de tetrabutilamonio
TBDMSCI	cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
TBME	<i>tert</i> -butilmetil éter
TBTU	tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TiCl ₄	tetracloruro de titanio
TMS-Br o TMSBr	bromuro de trimetilsililo
TMS-Cl o TMSCl	cloruro de trimetilsililo
TMSI	Yodotrimetilsilano o yoduro de trimetilsililo
TMS-OTf o TMSOtf	triflato de trimetilsililo
tR	Tiempo de retención
UPLC	cromatografía líquida de ultra resolución
Xantphos	4,5-Bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno
Xphos	2-Diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo

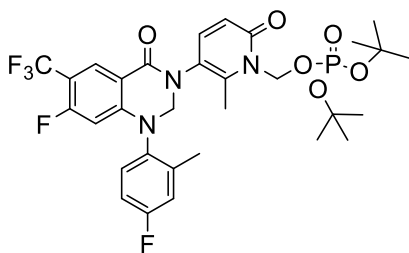
Ejemplo 1: dihidrógeno fosfato de (5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

Paso A: 3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona



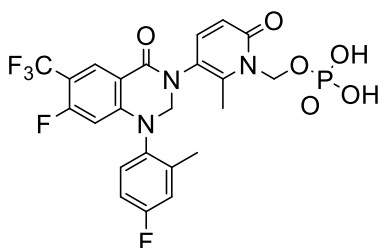
A una solución de 7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (que se puede sintetizar como se describe en el Ejemplo 107 de WO2020/261114) (6,73 g, 14,98 mmol) y DABCO (2,52 g, 22,46 mmol) en acetato de etilo (140,0 mL) y N,N-dimetilformamida (DMF) (14,00 mL), se le agregó cloroformato de clorometilo (4,00 mL, 44,9 mmol) gota a gota, cuando se formó un precipitado blanco de manera inmediata. La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 18 horas. Se agregó más cloroformato de clorometilo (2,66 mL, 30,0 mmol) y la reacción se calentó durante otras 3 horas. Se volvió a agregar más DABCO (0,420 mL, 3,74 mmol) y cloroformato de clorometilo (2,66 mL, 30,0 mmol) y la reacción se calentó durante otras 19 horas. Finalmente, se agregó cloroformato de clorometilo (1,332 mL, 14,98 mmol) y la reacción se calentó durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con más EtOAc y se neutralizó con agua y se agitó durante 10 minutos. El sólido se filtró y se lavó con agua para obtener 3,90 g del producto deseado como un sólido amarillo claro. Las capas del filtrado se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x). Los productos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ sat. ac. y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se trituroó con DCM para obtener un sólido marrón claro, que se volvió a triturar con agua para obtener otros 1,8 g del producto deseado como un sólido blancuzco. Los dos sólidos se combinaron para obtener 3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (5,71 g, 11,01 mmol, 73,5 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. HPLC/MS 1,24 min (Método B), [M+H]⁺ 498,0. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,10 (d, 1H, J=7,8 Hz), 7,4-7,6 (m, 2H), 7,3-7,4 (m, 1H), 7,2-7,2 (m, 1H), 6,4-6,5 (m, 1H), 5,6-6,4 (m, 3H), 4,8-5,6 (m, 2H), 2,4-2,5 (m, 3H), 2,2-2,3 (m, 3H).

Paso B: ((5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo



A una solución de 3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (6,20 g, 12,45 mmol) y fosfato de potasio di-*tert*-butilico (4,64 g, 18,68 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (170 mL), se le agregó yoduro de tetrabutilamonio (0,460 g, 1,245 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 3 horas cuando se formó un gel. La mezcla de reacción se enfrió y se neutralizó con agua cuando se formó un precipitado. El sólido se filtró y se lavó con agua para obtener ((5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (7,24 g, 10,24 mmol, 82 % de rendimiento) como un sólido amarillo claro. HPLC/MS 1,36 min (Método B), [M+H]⁺ 672,2. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,10 (d, 1H, J=8,3 Hz), 7,4-7,5 (m, 2H), 7,3-7,4 (m, 1H), 7,2-7,3 (m, 1H), 6,4-6,4 (m, 1H), 6,14 (dd, 1H, J=12,7, 18,1 Hz), 5,7-5,9 (m, 2H), 4,7-5,6 (m, 2H), 2,3-2,4 (m, 3H), 2,2-2,3 (m, 3H), 1,41 (s, 18H).

Paso C: dihidrógeno fosfato de (5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

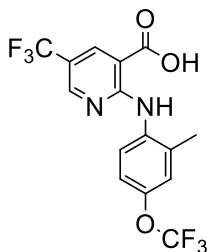


Una lechada de ((5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (7,20 g, 10,18 mmol) en acetona (70 mL) y agua (56,0 mL) se calentó a 50 °C durante 6 horas (la solución se volvió transparente). La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante otras 20 horas. Los volátiles se evaporaron al vacío a 35 °C, y la porción acuosa se secó por congelamiento para obtener un sólido blancuzco, que se trituró con DCM:éter (1:3) para obtener dihidrógeno fosfato de (5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (5,10 g, 8,66

mmol, 85 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. HPLC/MS 0,78 min (Método B), $[M+H]^+$ 560,2. 1H NMR (METANOL- d_4 , 400 MHz) δ 8,25 (d, 1H, $J=7,8$ Hz), 7,5-7,6 (m, 1H), 7,4-7,4 (m, 1H), 7,2-7,3 (m, 1H), 7,1-7,2 (m, 1H), 6,53 (d, 1H, $J=9,8$ Hz), 6,1-6,2 (m, 1H), 5,99 (d, 2H, $J=6,8$ Hz), 4,8-5,6 (m, 2H), 2,5-2,6 (m, 3H), 2,3-2,4 (m, 3H); 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,10 (d, 1H, $J=8,3$ Hz), 7,4-7,5 (m, 2H), 7,3-7,4 (m, 1H), 7,2-7,3 (m, 1H), 6,4-6,4 (m, 1H), 6,14 (dd, 1H, $J=13,0, 18,3$ Hz), 5,7-5,8 (m, 2H), 4,7-5,6 (m, 2H), 2,3-2,4 (m, 3H), 2,2-2,3 (m, 3H) (dos protones de OH ocultos).

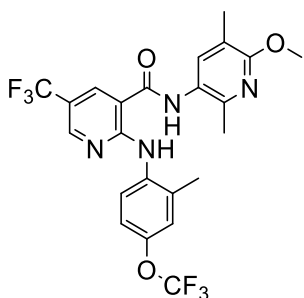
Ejemplo 2: dihidrógeno fosfato de (3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo.

Paso A: ácido 2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotínico



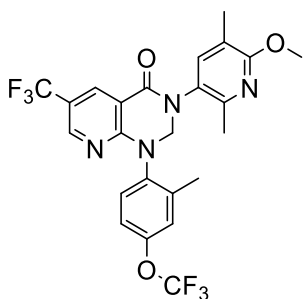
A una mezcla que contenía 2-metil-4-(trifluorometoxi)anilina (4,24 g, 22,17 mmol) en agua (50 mL), se le agregó ácido 2-cloro-5-(trifluorometil)nicotínico (5 g, 22,17 mmol), p-TsOH (1,265 g, 6,65 mmol) y piridina (1,793 mL, 22,17 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 95 °C durante 4 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, luego, se diluyó con 150 mL de agua y se agitó durante 1 h. El sólido se filtró y se lavó con agua (3 x 25 mL), se secó al vacío para obtener ácido 2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotínico (6,886 g, 17,20 mmol, 78 % de rendimiento) como un sólido naranja amarillento. HPLC/MS 0,93 min (Método B), $[M+H]^+$ 381,0. 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 14,16 (br s, 1H), 10,55 (s, 1H), 8,69 (dd, 1H, $J=1,0, 2,4$ Hz), 8,42 (d, 1H, $J=2,4$ Hz), 8,15 (d, 1H, $J=9,3$ Hz), 7,32 (s, 1H), 7,24 (dd, 1H, $J=2,2, 9,0$ Hz), 2,32 (s, 3H).

Paso B: N-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotinamida



A una solución de ácido 2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotínico (4,95 g, 12,37 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (60 mL), se le añadieron 6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-amina (1,882 g, 12,37 mmol), HATU (5,64 g, 14,84 mmol) y DIEA (6,48 mL, 37,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se diluyó en agua (110 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 150 mL). Los productos orgánicos combinados se lavaron con agua (3 x 100 mL), salmuera (100 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se trituró con DCM para obtener 3,9 g del compuesto deseado como un sólido blancuzco. El licor madre se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (CombiFlash, columna de 120 g) usando EtOAc al 0-15 %/heptano como eluyente para obtener otros 2,1 g del producto deseado como un sólido blancuzco. Se combinaron los dos lotes y se disolvieron en EtOAc y se concentraron para obtener N-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotinamida (6,1 g, 11,86 mmol, 96 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. HPLC/MS 1,57 min (Método A), [M+H]⁺ 515,1. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,87 (s, 1H), 10,42 (s, 1H), 8,67 (s, 2H), 8,19 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,48 (s, 1H), 7,3-7,3 (m, 1H), 7,23 (br d, 1H, J=8,8 Hz), 3,90 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,14 (s, 3H).

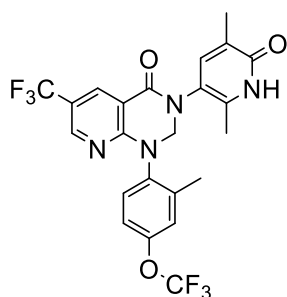
Paso C: 3-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona



A una solución de N-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-2-((2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)amino)-5-(trifluorometil)nicotinamida (8,1 g, 15,75 mmol) en acetonitrilo

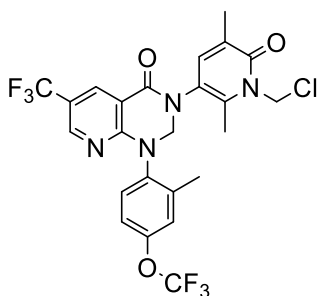
(110 mL), se le agregaron carbonato de cesio (20,52 g, 63,0 mmol) y diyodometano (5,08 mL, 63,0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 46 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y el sólido resultante se filtró y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró y purificó mediante cromatografía en gel de sílice (CombiFlash, columna de 220 g) usando EtOAc al 0-20 %/heptano como eluyente para obtener 3-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona (5,0 g, 8,74 mmol, 55,5 % de rendimiento) como un sólido amarillo. HPLC/MS 1,48 min (Método B), [M+H]⁺ 527,2. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,62 (d, 1H, J=1,5 Hz), 8,34 (d, 1H, J=2,4 Hz), 7,4-7,5 (m, 3H), 7,31 (br d, 1H, J=8,3 Hz), 5,0-5,8 (m, 2H), 3,89 (s, 3H), 2,30 (br s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,12 (s, 3H).

Paso D: 3-(2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona



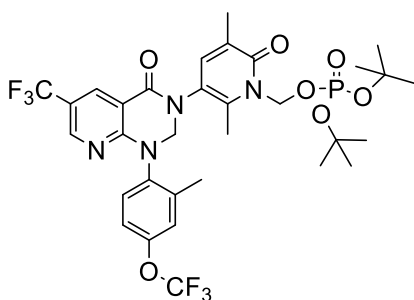
A una solución de 3-(6-metoxi-2,5-dimetilpiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona (4,9 g, 8,56 mmol) en isopropanol (100 mL), se le agregó HCl (5-6 N en IPA) (42,8 mL, 214 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 3 horas, luego se enfrió y se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc y se neutralizó con NaHCO₃ sat. ac. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y purificó mediante cromatografía en gel de sílice (CombiFlash, columna de 120 g) usando MeOH al 0-10 %/DCM como eluyente para obtener 3-(2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona (4,18 g, 8,16 mmol, 95 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. HPLC/MS 1,14 min (Método B), [M+H]⁺ 513,1. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,73 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, J=2,0 Hz), 8,31 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,4-7,5 (m, 2H), 7,3-7,3 (m, 2H), 4,9-5,7 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,10 (br s, 3H), 1,94 (s, 3H).

Paso E: 3-(1-(clorometil)-2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona



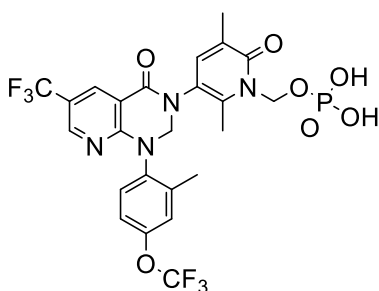
A una solución de 3-(2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona (3,82 g, 7,45 mmol) y DABCO (1,254 g, 11,18 mmol) en acetato de etilo (60 mL) y N,N-dimetilformamida (DMF) (7 mL), se le agregó una solución de cloroformato de clorometilo (2,65 mL, 29,8 mmol) en acetato de etilo (10 mL) gota a gota y se formó un precipitado blanco. La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 19 horas, y se agregó más cloroformato de clorometilo (1,326 mL, 14,91 mmol) y se agitó a 85 °C durante otras 3 horas, luego se agregó más cloroformato de clorometilo (0,331 mL, 3,73 mmol) y se agitó a 85 °C durante otra hora. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con más EtOAc y se neutralizó con agua. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Los productos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ sat. ac. y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (CombiFlash, columna de 80 g) eluido con heptano al 100 % durante 5 minutos, luego con EtOAc al 10-60 %/heptano para obtener 3-(1-(clorometil)-2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ons (4,0 g, 7,13 mmol, 96 % de rendimiento) como un sólido blanco. HPLC/MS 1,31 min (Método B), [M+H]⁺ 561,1. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,61 (s, 1H), 8,32 (d, 1H, J=2,4 Hz), 7,4-7,5 (m, 3H), 7,31 (br d, 1H, J=8,3 Hz), 4,9-6,4 (m, 4H), 2,41 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,0-2,0 (m, 3H).

Paso F: ((3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo



A una solución de 3-(1-(clorometil)-2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona (4,4 g, 7,84 mmol) y fosfato de potasio di-*tert*-butílico (2,92 g, 11,77 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (110 mL), se le agregó yoduro de tetrabutilamonio (0,290 g, 0,784 mmol) y se calentó a 70 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se neutralizó con agua (300 mL) cuando se formó un precipitado. La lechada se agitó vigorosamente durante 1 hora. El sólido se filtró y se lavó con agua para obtener ((3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (5,086 g, 6,72 mmol, 86 % de rendimiento) como un polvo blancuzco fino. HPLC/MS 1,41 min (Método B), [M+H]⁺ 735,1. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,61 (br s, 1H), 8,32 (d, 1H, J=2,4 Hz), 7,4-7,5 (m, 3H), 7,31 (br d, 1H, J=7,8 Hz), 5,84 (br d, 2H, J=5,9 Hz), 4,8-5,7 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,00 (br s, 3H), 1,41 (s, 18H).

Paso G: dihidrógeno fosfato de (3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

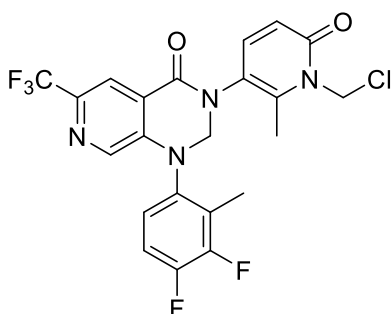


Una lechada de ((3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (5,0 g, 6,81 mmol) en acetona (50 mL) y agua (40 mL) se calentó a 50 °C durante 26 horas. La mezcla de reacción transparente se enfrió y se concentró a presión reducida a 50 °C y se secó en un horno al vacío a 45 °C durante la noche para obtener 4,2 g de un sólido de vidrio blancuzco. El sólido se trituroó con éter para obtener 3,4 g de un sólido blanco, que se volvió a triturar con DCM:éter (1:2) para obtener dihidrógeno fosfato de (3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (3,10 g, 4,83 mmol, 71 % de rendimiento) como un sólido blanco. HPLC/MS 0,78 min (Método B), [M+H]⁺ 623,0. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,61 (br s, 1H), 8,32 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,4-7,5 (m, 3H), 7,32 (br d, 1H, J=8,3 Hz), 5,7-5,8 (m, 2H), 4,9-5,7 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,00 (br s, 3H) (dos protones de OH ocultos); ¹H NMR (METANOL-d₄, 400 MHz) δ 8,5-8,5 (m, 2H), 7,4-7,5 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,26 (br d, 1H,

$J=7,8$ Hz), 6,01 (br d, 2H, $J=6,8$ Hz), 4,9-5,7 (m, 2H), 2,52 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,13 (s, 3H).

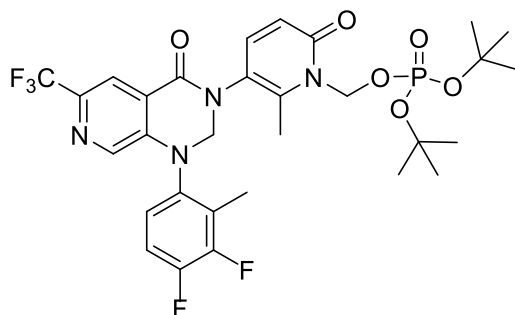
Ejemplo 3: dihidrógeno fosfato de (5-(1-(3,4-Difluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

5 Paso A: 3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-4(1H)-ona



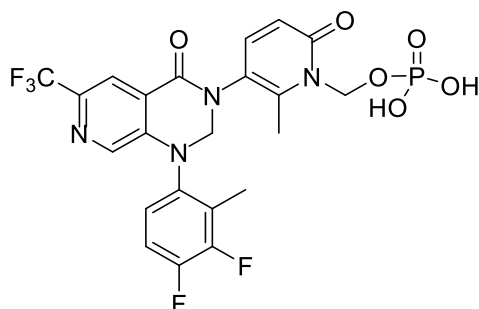
A una solución de 1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-4(1H)-ona (0,162 g, 0,360 mmol) y DABCO (0,032 g, 0,288 mmol) en acetato de etilo (3,27 mL) y DMF (0,327 mL) bajo nitrógeno se añadió cloroformiato de clorometilo (0,080 mL, 0,899 mmol) gota a gota y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y luego a 60 °C durante 18 h. Se añadieron complementariamente cloroformiato de clorometilo (0,056 mL, 0,719 mmol) y DABCO (0,032 g, 0,288 mmol) y luego la reacción se calentó durante 2 h. Se añadió complementariamente cloroformiato de clorometilo (0,278 mL, 3,60 mmol) y se continuó calentando durante 18 h. La reacción se enfrió y se neutralizó con solución acuosa saturada de NaHCO_3 . La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO_4 y el solvente concentrado. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Isco, columna de 24 g, 0 % a 50 % (3:1 EtOAc:EtOH)/heptano) para obtener el compuesto del título (110 mg, 0,221 mmol, 61 % de rendimiento). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 501MHz): δ (ppm) 8,02 a 8,06 (m, 1H, H-12), 7,84 a 8,00 (m, 1H, H-9), 7,41 a 7,58 (m, 2H, H-5, 17), 7,36 (br d, $J=18,4$ Hz, 1H, H-6), 6,44 (d, $J=9,8$ Hz, 1H, H-18), 5,57 a 6,32 (m, 2H, H-20), 4,85 a 5,56 (m, 2H, H-15), 2,31 a 2,48 (m, 3H, H-21), 2,23 (s, 3H, H-1). MS (m/z) 499 ($\text{M}+\text{H}^+$).

25 Paso B: ((5-(1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di *tert* butilo



A una solución de 3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-4(1H)-ona (0,091 g, 0,182 mmol) y fosfato de potasio de di-*tert*-butilo (0,068 g, 0,274 mmol) en DMF (0,91 mL) se añadió yoduro de tetrabutilamonio (6,74 mg, 0,018 mmol) y se calentó a 70 °C durante 2 h. La reacción se espesó por lo que se añadió DMF (0,5 mL) complementariamente. Luego la reacción se enfrió y se neutralizó con agua y se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Isco, columna de 24 g, 0 % a 50 % (3:1 EtOAc:EtOH)/heptano) para obtener el compuesto del título (95 mg, 0,141 mmol, 77 % de rendimiento). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,05 (s, 1H), 7,9 a 8,0 (m, 1H), 7,3 a 7,5 (m, 3H), 6,43 (d, 1H, J=9,3 Hz), 5,7 a 5,9 (m, 2H), 4,9 a 5,6 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,24 (d, 3H, J=2,0 Hz), 1,42 (s, 18H). MS (m/z) 561 (M+H-(t-butilo))

Paso C: dihidrógeno fosfato de (5-(1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

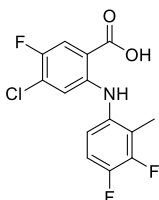


A una solución de ((5-(1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (88,8 mg, 0,132 mmol) disuelto en acetonitrilo (660 µL) y agua (660 µL) se añadió ácido acético (151 µL, 2,64 mmol) y se agitó a 70 °C durante 1,5 h. Luego, los solventes se concentraron y

la reacción se purificó mediante cromatografía de fase inversa en una columna C18 XSELECT CSH (150 mm x 30 mm i.d. 5 µm diámetro del embalaje) a temperatura ambiente con ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo en ácido fórmico al 0,1 % en agua como eluyente, para obtener el compuesto del título (46 mg, 0,081 mmol, 61 % de rendimiento). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,05 (s, 1H), 7,9 a 8,0 (m, 1H), 7,3 a 7,5 (m, 3H), 6,41 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,75 (br d, 2H, J=4,4 Hz), 4,9 a 5,6 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,24 (d, 3H, J=2,0 Hz), protones de hidroxifosfato intercambiados. MS (m/z) 559 (M-H)⁻.

Ejemplo 4: dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

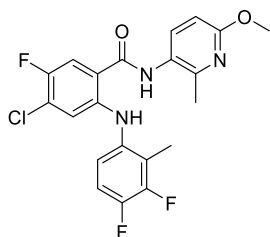
10 Paso A: Ácido 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluorobenzoico



A 1-bromo-3,4-difluoro-2-metilbenceno (8,52 g, 41,1 mmol) en 1,4-dioxano anhidro desgasificado (176 mL) bajo nitrógeno se añadió ácido 2-amino-4-cloro-5-fluorobenzoico (6 g, 31,7 mmol), carbonato de cesio (25,8 g, 79 mmol), BINAP (1,971 g, 3,17 mmol) y Pd₂(dba)₃ (1,449 g, 1,583 mmol). La reacción se agitó a 95 °C durante 3 días. La suspensión marrón se enfrió y se diluyó con acetato de etilo (350 mL) y se filtró a través de una almohadilla de Celite. La pasta del filtro se lavó con EtOAc (3 x 200 mL). El filtrado se concentró al vacío a 40 °C hasta un aceite oscuro y se añadió una mezcla de 1:1 DCM: heptano (150 mL) para dar un precipitado. El sólido se recolectó mediante filtración al vacío, se lavó con 10 % de DCM/heptano (3 x 25 mL) y se secó en aire al vacío para obtener ácido 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluorobenzoico, sal de cesio (2,78 g, 5,58 mmol, 17,6 % de rendimiento) como un sólido naranja tostado. La pasta del filtro Celite resultante que contenía el producto complementario se transfirió a un vaso de precipitados de 1 L y se agitó con 200 mL de agua a 25 °C, y el pH se ajustó a 4-5 con HCl 1 N cuando se añadió DCM (500 mL). La mezcla de Celite se filtró, se mantuvo el sólido para un aislamiento posterior del producto. Las capas del filtrado se separaron, la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a 40 °C hasta un sólido amarillo anaranjado como el producto deseado, ácido 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluorobenzoico (0,5 g, 1,426 mmol, 4,5 % de rendimiento) como un sólido amarillo anaranjado. La pasta sólida del filtro verde Celite de

arriba se transfirió a un vaso de precipitados de 1 L y se añadieron MeOH (400 mL), MeCN (100 mL) y DCM (50 mL) y la mezcla se agitó 1 hora a 25 °C. El sólido se recolectó mediante filtración al vacío y se enjuagó con MeOH (4 x 25 mL). El filtrado se concentró a 40 °C hasta un sólido marrón como producto deseado complementario, ácido 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluorobenzoico (7,65 g, 23,02 mmol, 72,7 % de rendimiento). HPLC/MS 1,37 min (método A), [M+1]⁺ 315,9. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,16 (s, 1H), 7,74 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 7,19 (q, J = 9,3 Hz, 1H), 7,13 a 7,07 (m, 1H), 6,91 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 2,16 (d, J = 2,4 Hz, 3H).

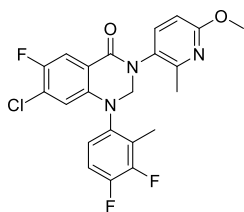
Paso B: 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluoro-N-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)benzamida



A una suspensión marrón de ácido 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluorobenzoico (8,15 g, 25,8 mmol) en N,N-dimetilformamida (148 mL) se añadieron 6-metoxi-2-metilpiridin-3-amina (4,46 g, 32,3 mmol) y HATU (11,78 g, 31,0 mmol), seguido de DIEA (13,53 mL, 77 mmol) en porciones durante 30 minutos para dar una solución marrón oscura. Esto se agitó durante 5 min a 25 °C y se combinó con otro lote (2,70 g, 6,18 mmol producto crudo) para su elaboración y purificación. A las mezclas de reacción crudas se añadió agua (320 mL) en porciones con la agitación y la mezcla se extrajo con EtOAc (400 mL, luego 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 200 mL), luego salmuera (50 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío a 40 °C hasta un aceite marrón. A este aceite se añadió 10 mL de DCM para formar un sólido granular y se añadió 1:1 DCM:heptano (100 mL) y se agitó durante 3 h para romper el sólido. El sólido se recolectó mediante filtración al vacío, la pasta se enjuagó con 10 % de DCM/heptano (4 x 10 mL) y se secó durante la noche al vacío para obtener el compuesto del título 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluoro-N-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)benzamida (3,18 g, 6,93 mmol, 21,67 % de rendimiento) como un sólido tostado. El filtrado se trató con 10 mL de DCM luego se añadió 1:1 DCM:heptano (100 mL) y se agitó durante 1 h para romper el sólido. El sólido se recolectó mediante filtración al vacío, se enjuagó con heptano (4 x 10 mL) y se secó en aire al vacío para obtener el producto complementario 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-

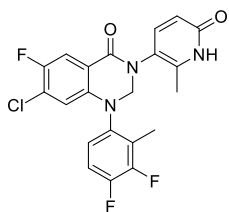
metilfenil)amino)-5-fluoro-N-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)benzamida (7,005 g, 15,27 mmol, 47,7 % de rendimiento) como un sólido marrón. El filtrado resultante se purificó en una columna de sílice ISCO Gold 220 gramos (Isco CombiFlash Rf, que eluye con 0 % a 25 % de EtOAc/heptano, gradiente 10 min, 125 mL/min). Las fracciones puras se concentraron a 40 °C hasta un sólido naranja y se secó a alto vacío para obtener el compuesto del título 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluoro-N-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)benzamida (1,744 g, 3,80 mmol, 11,88 % de rendimiento) como un sólido naranja brillante. HPLC/MS 1,32 min (método A), $[M+H]^+$ 436,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,11 (s, 1H), 9,27 (s, 1H), 7,96 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,28 (q, J = 9,3 Hz, 1H), 7,18 a 7,08 (m, 1H), 6,92 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,12 (d, J = 2,0 Hz, 3H).

Paso C: 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona



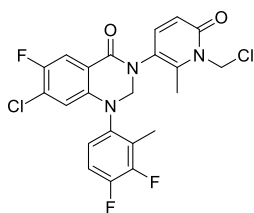
A 4-cloro-2-((3,4-difluoro-2-metilfenil)amino)-5-fluoro-N-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)benzamida (11,42 g, 26,2 mmol) en cloroformo (262 mL) se añadieron formaldehído (1,967 g, 65,5 mmol) y ácido sulfúrico (3,49 mL, 65,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 55 °C durante 1 h, y proporcionó una goma naranja al finalizar. Se añadió bicarbonato de sodio saturado (25 mL), se separó la capa orgánica y se extrajo la acuosa 2 x 25 mL EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se combinaron, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro y se concentraron al vacío hasta una espuma marrón. Esto se combinó con el producto crudo de otro lote (1,78 g, 3,99 mmol) para la purificación. Este sólido combinado se disolvió en 20 mL DCM y se purificó a través de Isco CombiFlash Rf (0 % a 50 % en EtOAc en heptano; columna de 330 g, gradiente 25 min). Las fracciones puras se recolectaron y el producto se aisló mediante concentración al vacío para obtener 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (11,5 g, 25,7 mmol, 85 % de rendimiento base ambos lotes). HPLC/MS 1,31 min (método A), $[M+1]^+$ 448,1. 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,79 (d, 1H, J =9,3 Hz), 7,59 (br d, 1H, J =7,8 Hz), 7,3 a 7,5 (m, 1H), 7,16 (br d, 1H, J =2,4 Hz), 6,71 (d, 1H, J =9,3 Hz), 6,4 a 6,6 (m, 1H), 4,7 a 5,6 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 2,2 a 2,4 (m, 3H), 2,20 (d, 3H, J =1,5 Hz).

Paso D: 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona



Una solución de 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(6-metoxi-2-metilpiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (11,43 g, 25,5 mmol) y HCl (128 mL, 638 mmol, 5N en isopropanol) en isopropanol (255 mL) se calentó hasta 90 °C bajo un condensador durante 1 h cuando se añadió 1,2-dicloroetano (85 mL) y la solución se calentó a 90 °C durante 20 h. La reacción se enfrió y el solvente se eliminó al vacío para obtener un sólido blanco (9,9 g). El sólido se disolvió en EtOAc y se enjuagó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío para obtener 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona como un sólido blanco (8,55 g, 19,7 mmol, 77 % de rendimiento). HPLC/MS 1,08 min (método B), $[M+1]^+$ 434,1. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,75 (br s, 1H), 7,77 (d, 1H, $J=9,3$ Hz), 7,35 (br dd, 2H, $J=10,3, 19,1$ Hz), 7,13 (br s, 1H), 6,4 a 6,8 (m, 1H), 6,17 (br d, 1H, $J=9,3$ Hz), 4,7 a 5,5 (m, 2H), 2,0 a 2,1 (s, 6H).

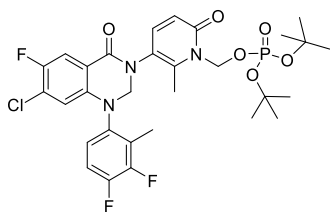
Paso E: 7-cloro-3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona



A una solución de 7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (4,6 g, 10,60 mmol) y DABCO (1,784 g, 15,91 mmol) en acetato de etilo (96 mL) y N,N-dimetilformamida (DMF) (9,64 mL) se añadió cloroformiato de clorometilo (3,77 mL, 42,4 mmol) y se calentó hasta 90 °C durante 36 h seguido de 25 °C durante 3 días en total. Se añadió complementariamente cloroformiato de clorometilo (3,77 mL, 42,4 mmol) y se calentó a 90 °C durante 2 h. La reacción se enfrió y se añadieron 100 mL de agua y 50 mL de salmuera. El producto se extrajo en 100 mL de EtOAc,

la capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo con 75 mL de EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2x), solución saturada de bicarbonato, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío hasta un sólido amarillo (4,8 g). El sólido se trituró con 10 mL de DCM y proporcionó un sólido blanco (3 g). El filtrado se filtró para obtener una segunda cosecha. El sólido se combinó para proporcionar (3,69 g 7,65 mmol, 72 % de rendimiento) de un sólido blancuzco. El filtrado restante se concentró al vacío, el residuo se disolvió en 1:1 EtOAc:MeOH caliente y se preabsorbió en sílice. El residuo se purificó a través de Isco CombiFlash Rf (50 % a 100 % en EtOAc en heptano; columna de 40 g, gradiente 20 min). Las fracciones puras se agruparon y se concentraron al vacío para obtener un compuesto del título complementario como un sólido blanco (500 mg, 1,04 mmol, 9,8 % de rendimiento) HPLC/MS 1,25 min (método B), $[M+1]^+$ 482,1. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, $J=9,3$ Hz), 7,2 a 7,5 (m, 2H), 7,16 (br dd, 1H, $J=3,9, 8,3$ Hz), 6,4 a 6,8 (m, 1H), 6,41 (d, 1H, $J=9,8$ Hz), 5,5 a 6,3 (m, 2H), 4,7 a 5,4 (m, 2H), 2,2 a 2,5 (m, 3H), 2,20 (d, 3H, $J=2,0$ Hz).

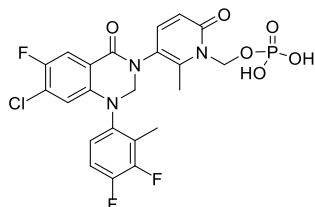
Paso F: ((5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo



A una solución de 7-cloro-3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (4,1 g, 8,50 mmol) y fosfato di-*tert*-butilo potásico (3,69 g, 14,88 mmol) en N,N-dimetilformamida (121 mL) se añadió yoduro de tetrabutilamonio (0,314 g, 0,850 mmol) y se calentó a 70 °C durante 1 h. La mezcla levemente gomosa se neutralizó con 40 mL de agua y se extrajo en 40 mL de EtOAc. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas orgánicas combinadas se enjuagaron con agua, solución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentraron al vacío hasta un semisólido amarillo. El residuo se purificó a través de Isco CombiFlash Rf (0 % a 20 % (3:1 EtOAc/EtOH) en DCM, 80 g en columna de sílice, gradiente 20 min). Las fracciones puras se agruparon y se concentraron al vacío para dar ((5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo como un sólido. HPLC/MS 1,37 min (método B), $[M-2^t\text{Bu}]^+$ 544,0. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, $J=9,3$ Hz), 7,3 a 7,5 (m, 2H),

7,16 (br d, 1H, J=1,0 Hz), 6,4 a 6,8 (m, 1H), 6,38 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,7 a 5,9 (m, 2H), 4,7 a 5,5 (m, 2H), 2,2 A 2,4 (m, 3H), 2,1 a 2,2 (m, 3H), 1,3 a 1,5 (m, 18H).

Paso G: dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo



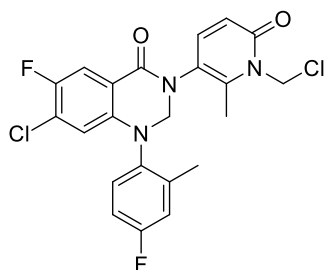
5

El ((5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di *tert*-butilo (3,36 g, 5,12 mmol) se calentó en acetona (26 mL) y agua (26 mL) durante 18 h a 50 °C. La reacción se enfrió para dar una solución incolora y se evaporó al vacío a 40 °C hasta un sólido espumoso blanco y se secó a alto vacío para proporcionar dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (2,6 g, 4,78 mmol, 93 % de rendimiento). HPLC/MS 0,73 min (método B), [M+H]⁺ 544,0. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,0 a 12,2 (m, 2H), 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,38 (br d, 2H, J=9,8 Hz), 7,1 a 7,2 (m, 1H), 6,5 a 6,8 (m, 1H), 6,37 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,6 a 5,8 (m, 2H), 4,6 a 5,5 (m, 2H), 2,2 a 2,4 (m, 3H), 2,20 (d, 3H, J=2,4 Hz).

15

Ejemplo 5: dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

Paso A: 7-cloro-3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona

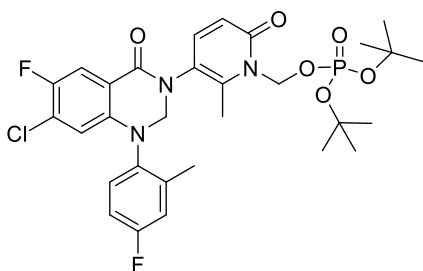


20

A una solución de 7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (5,06 g, 12,17 mmol) y DABCO (0,683 g, 6,08 mmol) en acetato de etilo (111 mL) y N,N-dimetilformamida (DMF) (11,06 mL) bajo

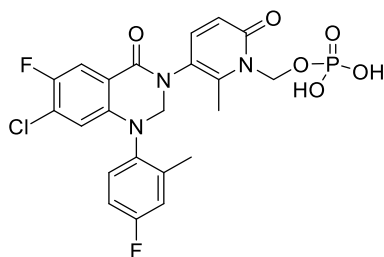
nitrógeno, se añadió cloroformiato de clorometilo (2,164 mL, 24,34 mmol) gota a gota a través del embudo de adición y se calentó hasta 75 °C durante 19 h. La reacción se enfrió, se neutralizó con agua y las capas se separaron. La capa acuosa se volvió a extraer con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas se enjuagaron con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se secaron con MgSO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Isco, columna de 300 g, 0 % a 50 % (3:1 EtOAc:EtOH)/heptano) para obtener el compuesto del título (3,88 g, 8,19 mmol, 67 % de rendimiento). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,47 (d, 1H, J=9,8 Hz), 7,3 a 7,4 (m, 2H), 7,1 a 7,2 (m, 1H), 6,42 (d, 1H, J=9,8 Hz), 6,3 a 6,4 (m, 1H), 5,5 a 6,2 (m, 2H), 4,7 a 5,5 (m, 2H), 2,3 a 2,5 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), MS (m/z) 464 (M+H)⁺.

Paso B: ((5-(7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo



A una solución de 7-cloro-3-(1-(clorometil)-2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona (3,52 g, 7,58 mmol) y fosfato di-*tert*-butilo potásico (2,82 g, 11,37 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (100 mL) se añadió yoduro de tetrabutilamonio (0,280 g, 0,758 mmol) y se calentó a 70 °C durante 2,5 h. La reacción se enfrió, se neutralizó con agua y se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Isco, columna de 300 g, 0 % a 20 % (3:1 EtOAc:EtOH)/DCM) para proporcionar el compuesto del título (3,52 g, 5,35 mmol, 70 % de rendimiento). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, J=8,8 Hz), 7,45 (d, 1H, J=9,8 Hz), 7,3 a 7,4 (m, 2H), 7,16 (br s, 1H), 6,3 a 6,6 (m, 2H, J=9,8 Hz), 5,7 a 5,9 (m, 2H), 4,6 a 5,5 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,41 (d, 18H, J=2,4 Hz), MS (m/z) 638 (M+H)⁺.

Paso C: dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo

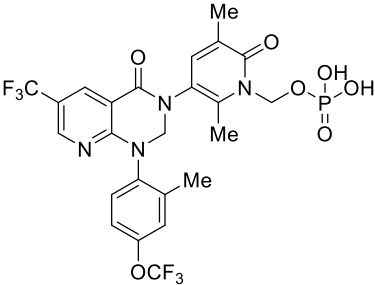
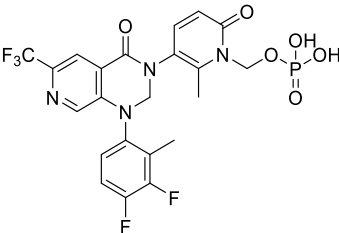
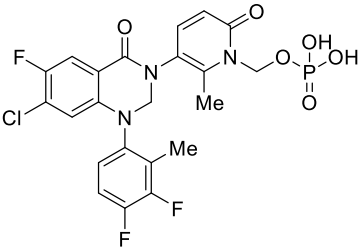
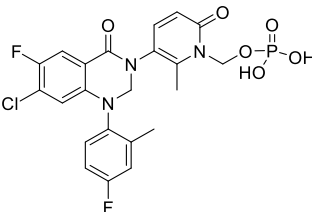


Se disolvió una solución de ((5-(7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (3,47 g, 5,44 mmol) en acetona (40 mL) y agua (30 mL), se calentó hasta 50 °C durante 16 h y se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Los disolventes se concentraron y después se bombeó a alto vacío para proporcionar el compuesto del título (2,74 g, 5,16 mmol, 95 % de rendimiento). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,44 (d, 1H, J=9,8 Hz), 7,3 a 7,4 (m, 2H), 7,18 (br d, 1H, J=6,8 Hz), 6,3 a 6,5 (m, 2H, J=9,8 Hz), 5,7 a 5,8 (m, 2H), 4,6 a 5,6 (m, 2H), 2,8 a 4,3 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), MS (m/z) 526 (M+H)⁺.

10

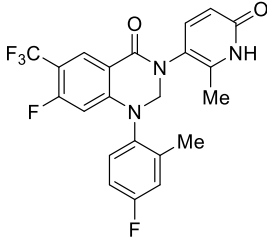
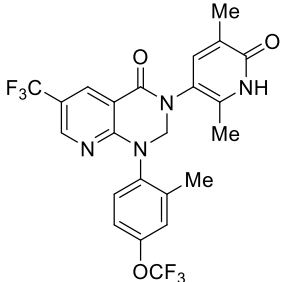
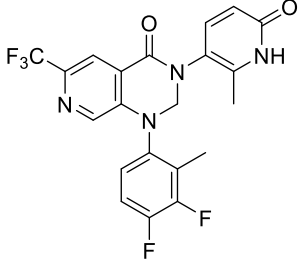
Tabla 1.

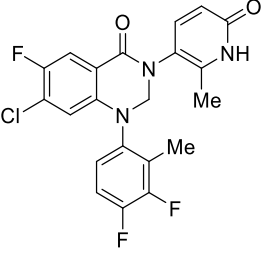
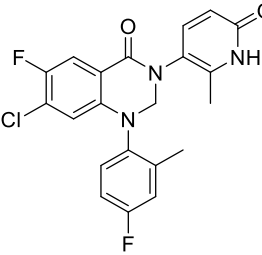
Compuesto	Nombre	Estructura	Caracterización
1	Dihidrógeno fosfato de (5-(7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo		[M+H]⁺ 560,2. ¹H NMR (METANOL-d₄, 400 MHz) δ 8,25 (d, 1H, J=7,8 Hz), 7,5 a 7,6 (m, 1H), 7,4 a 7,4 (m, 1H), 7,2 a 7,3 (m, 1H), 7,1 a 7,2 (m, 1H), 6,53 (d, 1H, J=9,8 Hz), 6,1 a 6,2 (m, 1H), 5,99 (d, 2H, J=6,8 Hz), 4,8 a 5,6 (m, 2H), 2,5 a 2,6 (m, 3H), 2,3 a 2,4 (m, 3H). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,10 (d, 1H, J=8,3 Hz), 7,4 a 7,5 (m, 2H), 7,3 a 7,4 (m, 1H), 7,2 a 7,3 (m, 1H), 6,4 a 6,4 (m, 1H), 6,14 (dd, 1H, J=13,0, 18,3 Hz), 5,7 a 5,8 (m, 2H), 4,7 a 5,6 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,2 a 2,3 (m, 3H) (dos protones OH ocultos).

2	Dihidrógeno fosfato de (3,6-dimetil-5-(1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-3(2H)-il)-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo		[M+H] ⁺ 623,0. ¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 8,61 (br s, 1H), 8,32 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,4 a 7,5 (m, 3H), 7,32 (br d, 1H, J=8,3 Hz), 5,7 a 5,8 (m, 2H), 4,9 a 5,7 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,00 (br s, 3H) (dos protones OH ocultos). ¹ H NMR (METANOL-d ₄ , 400 MHz) δ 8,5 a 8,5 (m, 2H), 7,4 a 7,5 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,26 (br d, 1H, J=7,8 Hz), 6,01 (br d, 2H, J=6,8 Hz), 4,9 a 5,7 (m, 2H), 2,52 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,13 (s, 3H).
3	Dihidrógeno fosfato de (5-(1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-4-oxo-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo		¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 8,05 (s, 1H), 7,9 a 8,0 (m, 1H), 7,3 a 7,5 (m, 3H), 6,41 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,75 (br d, 2H, J=4,4 Hz), 4,9 a 5,6 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,24 (d, 3H, J=2,0 Hz), protones de hidroxifosfato intercambiados. MS (m/z) 559 (M-H) ⁻
4	Dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo		¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 11,0 a 12,2 (m, 2H), 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,38 (br d, 2H, J=9,8 Hz), 7,1 a 7,2 (m, 1H), 6,5 a 6,8 (m, 1H), 6,37 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,6 a 5,8 (m, 2H), 4,6 a 5,5 (m, 2H), 2,2 a 2,4 (m, 3H), 2,20 (d, 3H, J=2,4 Hz).
5	Dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-oxo-1,4-		¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,44 (d, 1H, J=9,8 Hz), 7,3 a 7,4 (m, 2H), 7,18 (br d, 1H, J=6,8 Hz), 6,3 a 6,5 (m, 2H, J=9,8 Hz), 5,7 a 5,8

	dihidroquinazol in-3(2H)-il)-6- metil-2- oxopiridin- 1(2H)-il)metilo		(m, 2H), 4,6 a 5,6 (m, 2H), 2,8 a 4,3 (m, 2H), 2,3 a 2,4 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), MS (m/z) 526 (M+H) ⁺ .
--	--	--	---

Tabla 1A.

Compuesto	Nombre	Estructura	Caracterización
1A	7-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona		[M+H] ⁺ 450,1 ¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 11,78 (br s, 1H), 8,09 (d, 1H, J=7,8 Hz), 7,3 a 7,5 (m, 3H), 7,2 a 7,2 (m, 1H), 6,1 a 6,2 (m, 2H), 4,8 a 5,6 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,12 (s, 3H)
2A	3-(2,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-4(1H)-ona		[M+H] ⁺ 513,1. ¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 11,73 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, J=2,0 Hz), 8,31 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,4 a 7,5 (m, 2H), 7,3 a 7,3 (m, 2H), 4,9 a 5,7 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,10 (br s, 3H), 1,94 (s, 3H)
3A	1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(trifluorometil)-2,3-dihidropirido[3,4-d]pirimidin-4(1H)-ona		[M+H] ⁺ 451,0. ¹ H NMR (700 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 11,18 a 12,29 (m, 1 H) 8,00 a 8,07 (m, 1 H) 7,79 a 7,96 (m, 1 H) 7,43 a 7,51 (m, 1 H) 7,37 a 7,43 (m, 1 H) 7,2 a 7,36 (m, 1 H) 6,21 (d, J=9,47 Hz, 1 H) 4,90 a 5,55 (m, 2 H) 2,19 a 2,29 (m, 3 H) 2,02 a 2,16 (m, 3 H)

4A	7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona		[M+1] ⁺ 434,1. ¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 11,75 (br s, 1H), 7,77 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,35 (br dd, 2H, J=10,3, 19,1 Hz), 7,13 (br s, 1H), 6,4 a 6,8 (m, 1H), 6,17 (br d, 1H, J=9,3 Hz), 4,7 a 5,5 (m, 2H), 2,19 (br s, 1H), 2,0 a 2,1 (s, 3H)
5A	7-cloro-6-fluoro-1-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-(2-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-ona		[M+1] ⁺ 416,3. ¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 600 MHz): δ (ppm) 11,77 (br s, 1H), 7,76 (d, J=9,1 Hz, 1H), 7,24 a 7,41 (m, 3H), 7,16 (br s, 1H), 6,25 a 6,53 (m, 1H), 6,18 (d, J=9,5 Hz, 1H), 4,69 a 5,42 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,02 a 2,18 (m, 3H)

Ejemplo 6: Preparación de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo en forma cristalina.

Se prepararon las formas cristalinas de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (ejemplo de compuesto No. 4) y se caracterizaron mediante difracción de rayos X de polvos (XRPD) mediante una fuente de radiación de Cu.

Vía 1

Se disolvió una solución de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (35 mg, 0,064 mmol) en acetato de etilo (161 µL) al calentarla hasta su dilución, luego se añadieron 10 gotas de TBME y la solución se dejó en reposo a 25 °C durante 4 días. Se formó un sólido blanco y se eliminó el solvente mediante la evaporación para proporcionar dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (20,0 mg, 0,037 mmol, 57,1 % de rendimiento) como un sólido blanco, y mostró cierto carácter cristalino mediante la XRPD (Figura 1)

Vía 2

Se elaboró una solución de dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (875 mg, 1,61 mmol) en acetato de etilo (400 µL) al calentarla hasta 65 °C, luego se añadió éter de t-butilmetilo (10 gotas, 401 µL) y se dejó en reposo y se enfrió lentamente hasta 25 °C durante 4 días. El sólido formado se filtró y se secó bajo aire durante 18 días luego en un horno al vacío alto durante 18 h a 60 °C. El patrón XPRD (Figura 2) mostró un carácter cristalino del producto deseado dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo (0,500 g, 0,919 mmol, 57,1 % de rendimiento). HPLC/MS 0,74 min (método B), [M+H]⁺ 544,0. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,0 a 12,2 (m, 2H), 7,78 (d, 1H, J=9,3 Hz), 7,38 (br d, 2H, J=9,8 Hz), 7,1 a 7,2 (m, 1H), 6,5 a 6,8 (m, 1H), 6,37 (d, 1H, J=9,8 Hz), 5,6 a 5,8 (m, 2H), 4,6 a 5,5 (m, 2H), 2,2 a 2,4 (m, 3H), 2,20 (d, 3H, J=2,4 Hz).

Preparación de las semillas

Se cargó ((5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)fosfato de di-*tert*-butilo (8,5 g, 12,957 mmol, 1 equiv.) con acetonitrilo (59,5 mL, 0,218 M, 7 equivalencias de volumen) y agua (8,5 mL, 1,524 M, 1 equivalencia de volumen). La mezcla se entibió hasta Tr=50 °C (Tj=53 °C a 54 °C) y se agitó hasta que se obtuvo la solución. Luego se cargó acetonitrilo (34 mL, 0,381 M, 4 equivalencias de volumen) al tiempo que se mantenía la temperatura de la mezcla en el intervalo de 45 °C a 50 °C. La mezcla luego se enfrió hasta 15 °C a una tasa de 0,4 °C/min y se agitó durante la noche. La mezcla luego se enfrió aún más hasta 0 °C a una tasa de 0,3 °C/min y se agitó durante 2 h. La suspensión obtenida se filtró y se lavó con acetonitrilo (2 x 3 vol). La pasta húmeda luego se secó al vacío a temperatura ambiente para obtener 5,95 g de un sólido seco cristalino que se caracterizó mediante XRDP (Figura 5). El sólido cristalino que se obtuvo se utilizó como semilla en los siguientes procedimientos (vía 3 y vía 4).

Vía 3

Dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo se mezcló con 7,4 equivalencias en volumen de acetona y 2,6 equivalencias en volumen de DMSO a 25 °C. Después se añadió 0,3 equivalencias en volumen de DMSO y la mezcla se agitó hasta lograr disolución completa. Después se realizó una filtración para clarificación. Las siguientes cargas se basaron en

compuestos disueltos. A la solución clarificada se añadieron tres equivalencias en volumen de agua, seguido de 1,9 % en peso de compuesto cristalino como semillas. Después, la mezcla se mezcló durante unas 15 h. Se añadieron otras 3 equivalencias en volumen de agua, seguido de 1,2 % en peso de compuesto cristalino como semillas. La mezcla se mezcló durante 40 min, después se añadieron 8,26 equivalencias en volumen de agua durante 6 h. La mezcla se envejeció durante 19 h para producir una suspensión blanca. La suspensión se filtró al vacío y la pasta se lavó con 3 x 3 equivalencias en volumen de agua/acetona 2:1 (v:v) en secuencia como lavados de desplazamiento. La pasta húmeda se secó al vacío con un leve barrido de aire a aproximadamente 50 °C hasta peso constante para producir dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino (Figura 3).

Vía 4

Dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo se mezcló con 2,5 equivalencias en volumen de acetona y 2,5 equivalencias en volumen de DMSO a 25 °C hasta lograr disolución completa. Después se agregaron 5 equivalencias en volumen de agua, seguido de 16 % en peso de compuesto cristalino como semillas, como una suspensión en 10 equivalencias en volumen de acetona/DMSO/agua 1:1:2 (v:v:v) basado en la masa de semillas. La mezcla se mezcló durante 18 h para producir una suspensión blanca. La suspensión se filtró al vacío y la pasta se lavó con 3 x 3 equivalencias en volumen de acetona en secuencia como lavados de desplazamiento. La pasta húmeda se secó al vacío a aproximadamente 50 °C hasta peso constante para producir dihidrógeno fosfato de (5-(7-cloro-1-(3,4-difluoro-2-metilfenil)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2H)-il)-6-metil-2-oxopiridin-1(2H)-il)metilo cristalino. El patrón de XRPD se muestra en la Figura 4 y los picos característicos, o ángulos de difracción (2θ) del patrón de XRPD, se indican en la Tabla 2. El XRPD se adquirió mediante un difractómetro de rayos X Rigaku Miniflex con una fuente de Cu usando los siguientes parámetros de medición:

Posición inicial (°2θ) 5,0000

Posición final (°2θ) 40,0000

Tamaño de paso 0,0200

Tiempo de paso de escaneo (s) 0,3478

Material del ánodo Cu

K-Alfa1 [Å] 1,54060

K-Alfa2 [Å] 1,54443

Configuración del generador 15 mA, 40 kV

5 **Tabla 2:** picos y espaciados d característicos

Pos. [°2θ]	Espaciado d [Å]	rel. Int. (%)
7,9581	11,10998	1,56
11,347	7,7983	11,05
11,8794	7,44996	59,18
13,2901	6,66221	68,99
13,8326	6,40209	5,08
14,736	6,01159	13,27
14,8996	5,94596	19,67
15,9968	5,54053	46,94
17,9319	4,94675	11,06
18,2004	4,87435	17,81
19,1259	4,64053	22,28
19,2678	4,60667	14,18
19,8225	4,47901	36,24
20,1507	4,40679	12,42
20,4436	4,3443	5,26
21,2034	4,19033	100
21,7017	4,09522	6,94
22,5358	3,94549	10,97
22,7853	3,90285	8,49
23,1065	3,84932	18,47
23,3949	3,80252	9,54
23,6774	3,75779	17,41
24,482	3,63608	70,37
24,8436	3,58397	17,59
25,1774	3,5372	28,64
25,4492	3,50004	36,69
26,0887	3,41285	28,19
26,415	3,37423	14,15
26,678	3,34155	34,48
27,9924	3,18757	11,58
28,2445	3,15969	20,07
28,7578	3,10444	11,22
29,6739	3,01066	17,09
30,1037	2,96865	9,8
30,9981	2,885	5,95
31,6522	2,82686	12,44
32,0155	2,79561	5,03
32,4211	2,76155	15,9

32,833	2,72785	3,99
33,6916	2,65807	9,89
34,0801	2,63082	6,26
35,0199	2,56235	1,99
35,6245	2,52023	5,3
35,8221	2,50678	5,5
36,1438	2,48521	2,53
36,8816	2,43717	3,48
37,6252	2,39069	6,06
38,3991	2,34428	7,35
38,7594	2,32331	5,11
39,0517	2,30659	1,86
39,886	2,25838	2,87

Ensayos Biológicos

Ensayo biológico 1: actividad inhibitoria de Na_v1.8

Células 293 del riñón embrionario humano (HEK293) que expresan Na_v1.8 humano, Na_vβ1 humano y TREK1 humano (HEK293-Na_v1.8) se cultivaron en matraces del cultivo celular T150 en incubadora a 37 °C y CO₂ al 5 %. Los HEK293-Na_v1.8 se sometieron a pasajes cada 2-3 días cuando la confluencia alcanzó el 80-90 % en matraces del cultivo celular T150.

La evaluación farmacológica de los compuestos de la invención se llevó a cabo mediante la plataforma electrofisiológica QPatch 48 HTX. Se prepararon HEK293-Na_v1.8 el día del uso al eliminar el medio de cultivo, lavar en DPBS, añadir Accutase (2 mL para cubrir la superficie, aspirar 1 mL luego 1-2 minutos a 37 °C) seguido de la adición de CHO-SFM II para detener la digestión enzimática y para obtener una suspensión de 3 × 10⁶ células/mL.

Los compuestos de la invención se prepararon en una solución extracelular de la siguiente composición: NaCl (145 mM), KCl (4 mM), CaCl₂ (2 mM), MgCl (2 mM), HEPES (1 mM), glucosa (10 mM), pH 7,4 con osmolalidad de NaOH 300 mOsm/L. Se usó una solución intracelular de la siguiente composición: CsF (115 mM), CsCl (20 mM), NaCl (5 mM), EGTA (10 mM), HEPES (10 mM), sacarosa (20 mM), pH 7,2 con osmolalidad de CsOH 310 mOsm/L.

Utilizando el modo de pinza de voltaje en el sistema QPatch 48 HTX se usó un protocolo de voltaje en estado de semi-inactivación ($V_{1/2}$) para determinar la actividad farmacológica de compuestos de invención en los canales de iones Na_v1.8. Se utilizó un protocolo de $V_{1/2}$ con los siguientes pasos de voltaje: se estableció un voltaje de mantenimiento de -100 mV seguido de un paso de voltaje de 20 ms hasta 0 mV (P1), seguido de un paso de voltaje de inactivación a -46 mV durante 8 segundos, seguido de un paso a -

100 mV durante 20 ms, antes de un paso de 20 ms hasta 0 mV (P2), después se retornó al voltaje de mantenimiento de -100 mV. Este protocolo de voltaje se repitió a una frecuencia de cada 15 segundos, la magnitud de corriente se cuantificó en el paso P2 durante todo el registro. La inhibición de la amplitud de la corriente medida con los compuestos de la invención se analizó al ajustar una curva de respuesta a la dosis de 4 a 6 puntos, lo que permitió la determinación de la concentración de inhibición del 50 % (IC_{50}). Las corrientes de P2 se normalizaron según las mediciones efectuadas en el valor de referencia (valor de referencia, solo vehículo), después del compuesto (entrada, a cada concentración de prueba), y después del compuesto de referencia positiva (respuesta completa, para lograr el bloque completo), ajustadas a la siguiente ecuación:

$$n.I_{CPD} = \text{Corriente normalizada} = \frac{(\text{Entrada} - \text{valor inicial})}{(\text{Respuesta completa} - \text{Valor inicial})}$$

Para evaluar la reducción de la corriente en el transcurso del experimento, se utilizaron los pocillos de solo vehículo y se determinó la corriente normalizada con solo vehículo $n.I_{VEH}$. Para corregir la respuesta del compuesto para la reducción, las corrientes se corrigieron según la siguiente fórmula:

$$n.I_{RD_Correcto} = \frac{(n.I_{CPD} - n.I_{VEH})}{(1 - n.I_{VEH})}$$

La inhibición del compuesto se ajustó a la siguiente ecuación de Hill para estimar la concentración de inhibición semimáxima (IC_{50})

$$Y = \frac{C^h}{(IC_{50}^h + C^h)}$$

donde Y es la inhibición normalizada corregida para la reducción con respecto al control del vehículo (equivalente a $n.I_{RD_Correcto}$), C la concentración del compuesto de prueba, IC_{50} la concentración del compuesto de prueba para inhibir la corriente de sodio en un 50 % y h el coeficiente de Hill.

Los compuestos ejemplificados que se muestran en las Tablas 1 y 1A en el presente documento son activos contra los canales de sodio Nav1. 8 medidos mediante los ensayos descritos en el presente documento y como se presentan en la siguiente Tabla 3.

Cada uno de los Ejemplos de compuestos de la invención indicados identificados individualmente en los siguientes gráficos se evaluó en al menos una forma ejemplificada de sal o base libre. A menos que se indique de otra manera, los ejemplos de la invención de

compuestos evaluados mostraron una actividad farmacológica de Nav1.8 pIC₅₀ (Qpatch) >5,0. En otro aspecto, los ejemplos de compuestos de la invención de evaluados exhibieron una actividad farmacológica de Nav1.8 pIC₅₀ (Qpatch) >6,0.

Tabla 3. Resultados del Ensayo biológico 1

Compuestos profármaco		Compuestos parentales	
No. de Ejemplo de compuesto	[Nav1.8] pIC ₅₀	No. de Compuesto parental	[Nav1.8] pIC ₅₀
1	7,5	1A	8,0
2	6,3	2A	7,7
3	5,9	3A	7,0
4	7,5	4A	8,3
5	7,2	5A	8,3

5 Ensayo biológico 2: solubilidad mediante CAD

La solubilidad cinética se midió mediante detector de aerosol cargado (CAD). La solubilidad cinética acuosa a pH 7,4 se determinó al medir la concentración de soluto en solución después de la precipitación de la solución madre de DMSO. La solución madre de DMSO se diluyó 20 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) de pH 7,4 y la solubilidad del compuesto se midió mediante HPLC-CAD después de 1 hora de equilibrado a temperatura ambiente. Se prepararon estándares de calibración de ketoconazol y primidona mediante diluciones en serie en DMSO a concentraciones que variaron de 0,016 a 4,5 mg/mL para producir la curva de calibración usada para determinar la solubilidad de los compuestos como se describió previamente en Max W. Robinson *et al*, Use of Calculated Physicochemical Properties to Enhance Quantitative Response When Using Charged Aerosol Detection, Anal. Chem., 2017, 89 (3), pp 1772-1777, que se incorpora en el presente documento como referencia. La solubilidad mediante CAD de los compuestos profármaco de la invención y los compuestos parentales correspondientes se midió como se describió anteriormente y los resultados se muestran en la siguiente Tabla 4.

20 **Tabla 4.** Resultados del Ensayo biológico 2

Compuestos profármaco		Compuestos parentales	
No. de Ejemplo de compuesto	Solubilidad mediante CAD (mg/mL)	No. de Compuesto parental	Solubilidad mediante CAD (mg/mL)
1	≥192	1A	32
2	≥217	2A	56
3	224	3A	≥210

4	157	4A	44
5	135	5A	55

Ensayo biológico 3: estudio IV/PO en ratas

Se efectuó un estudio farmacocinético *in vivo* en ratas para determinar si los compuestos profármaco de la invención se convierten al respectivo compuesto parental tras la administración. El estudio farmacocinético en ratas se efectuó con un diseño cruzado en dos días de estudio con un periodo de recuperación de un día entre cada día de estudio. Para el estudio se usaron tres ratas Han Wistar machos, con doble cateterización (vena femoral y arteria carótida). Cada rata también fue implantada con un catéter gástrico para la administración oral de la dosis. Las ratas se dosificaron a 1 mg/kg mediante una infusión intravenosa (IV) de 60 minutos (cánula de la vena femoral), y posteriormente recibieron por vía oral 2 mg/kg a través de la cánula gástrica, con 48 horas entre las sesiones de dosificación. Las soluciones de dosis del compuesto del Ejemplo 4 se prepararon en 20 % de Cavitron/5 % de DMSO/75 % de agua (IV) y en 6 % de Cavitron/5 % de DMSO/89 % de agua (PO) sin ajuste de pH. Las soluciones de dosis se filtraron mediante un filtro de 0,22 µm. El pH de las soluciones de dosificación final fue 6,0.

Durante la fase del estudio intravenoso, se recogieron muestras de sangre del catéter de la arteria carótida a los tiempos objetivo de 15, 30, 60 (final de la infusión), 65, 75, 90, 120, 240, 360, 480, 720 y 1440 minutos después del inicio de la infusión intravenosa del compuesto del Ejemplo 4. Durante la fase del estudio oral, se recogieron muestras de sangre antes de la dosificación y a los tiempos objetivo de 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720 y 1440 minutos después de la administración oral. Las muestras de sangre (100 µL) se mezclaron con 100 µL de inhibidor de fosfatasa, una mezcla de 50 µL de alícuota de sangre e inhibidor se transfirió a un tubo no heparinizado y se almacenó a aproximadamente -80 °C hasta su análisis. Las concentraciones en las soluciones de dosis filtradas se confirmaron al preparar diluciones por etapas, primero en 50 % de acetonitrilo acuoso con un 0,1 % de ácido fórmico, después en sangre heparinizada de Wistar Han machos:inhibidor para lograr concentraciones nominales determinadas. Se retiraron alícuotas de 50 µL por triplicado, las cuales se congelaron y almacenaron a aproximadamente 80 °C hasta analizarse mediante LC-MS/MS como se describe a continuación. Para cuantificar el compuesto del Ejemplo 4 y el correspondiente compuesto parental del Ejemplo 4A en las muestras biológicas generadas en el estudio *in vivo* descrito anteriormente se usó LC-MS/MS.

Las muestras se prepararon mediante precipitación de proteínas, seguida de análisis

LC-MS/MS empleando ionización en modo positivo contra un conjunto de estándares de calibración para los compuestos preparados en la misma matriz. Los parámetros farmacocinéticos para el estudio se derivaron de los perfiles de concentración versus tiempo. Se determinaron parámetros farmacocinéticos clave tales como $AUC_{0-\infty}$ (área extrapolada bajo la curva concentración de sangre-tiempo), AUC_{0-t} (área bajo la curva concentración de sangre-tiempo hasta el último punto temporal con fármaco cuantificable), $C_{\max}$ (concentración máxima), $T_{\max}$ (tiempo al cual se alcanza la $C_{\max}$), CL (depuración de la sangre sistémica), V_{dss} (volumen de distribución en estado estacionario), MRT (tiempo medio de residencia), y $t_{1/2}$ (semivida) para el compuesto del Ejemplo 4. Se determinaron parámetros farmacocinéticos clave tales como $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} , $C_{\max}$, $T_{\max}$, MRT y $t_{1/2}$ (semivida) para el compuesto parental del Ejemplo 4A. Los datos estadísticos descriptivos de los parámetros farmacocinéticos, incluidas la media y la desviación estándar (SD) se calcularon con Microsoft Excel. Los datos se muestran a continuación en las Tablas 5A y 5B. Los datos se reportan como media $\pm$ SD (N = 3).

Tabla 5A. Resultados del Ensayo biológico 3 (compuesto profármaco)

	Parámetro	Vía	
		Intravenosa	Oral
Compuesto del Ejemplo 4 (Profármaco)	Dosis (mg/kg)	1,2 $\pm$ 0,1	3,0 $\pm$ 0,0
	$C_{\max}$. (ng/mL)	238 $\pm$ 45	No hubo concentraciones cuantificables tras la administración oral
	Semivida (h)	0,67 $\pm$ 0,29	
	MRT (h)	0,10 $\pm$ 0,02	
	Cl (mL/min/kg)	110 $\pm$ 33	
	V_{dss} (L/kg)	0,687 $\pm$ 0,284	
	AUC_{0-t} (mg.h/mL)	0,197 $\pm$ 0,284	
	$AUC_{0-\infty}$ (mg.h/mL)	0,197 $\pm$ 0,044	
	Biodisponibilidad (%)	-	

Tabla 5B. Resultados del Ensayo biológico 3 (compuesto parental)

	Parámetro	Vía	
		Intravenosa	Oral
Compuesto del Ejemplo 4A (Parental)^d	$C_{\max}$. (ng/mL)	308 $\pm$ 15	413 $\pm$ 21
	Semivida (h) ^b	NR ^c , 4,5, 4,8	6,0 $\pm$ 0,6
	MRT (h) ^b	NR ^c , 6,7, 8,0	-
	AUC_{0-t} (mg.h/mL)	1,75 $\pm$ 0,24	5,25 $\pm$ 1,60
	$AUC_{0-\infty}$ (mg.h/mL) ^b	NR ^c , 1,50, 1,94	5,71 $\pm$ 1,91

^b Valores indicados individualmente debido a la variabilidad en el grupo IV

^c NR denota “no registrado”

^d Datos del Ejemplo 4A según la dosificación del profármaco del Ejemplo 4

Ensayo biológico 4: ensayo mediante electrofisiología de pinza de parche manual

5 La actividad farmacológica de los compuestos del Ejemplo 4A y Ejemplo 5A (compuesto parental activo del profármaco del Ejemplo 4 y Ejemplo 5, respectivamente) se investigó mediante un método electrofisiológico de pinza de parche usando un sistema celular en el que Nav1.8 humano estaba sobreexpresado en células HEK293. Con este enfoque, Nav1.8 puede activarse al modular el voltaje de la membrana plasmática y después la función
10 del canal (conducción de Na⁺) puede cuantificarse directamente. La capacidad de los inhibidores de Nav1.8 para bloquear la función del canal en este sistema es una medida de la unión al objetivo y la inhibición.

Métodos

Preparación celular: células HEK293 que sobreexpresan Nav1.8 humano
15 (BIOCAT124824) se cultivaron a 37 °C, CO₂ al 5 % en medio (DMEM/F12 con 10 % de FBS, 2 mM de GlutaMAX, 0,1 mM de NEAA y 400 mg/mL de G418, 100 mg/mL de higromicina-B y 0,625 mg/mL de puromicina). Las células se sometieron a pasajes cada 2-3 días cuando la confluencia alcanzó ~80 %.

Preparación de la solución de registro electrofisiológico: para los registros de pinza de
20 voltaje en el estudio de pinza de parche de célula completa descrito a continuación se prepararon y usaron soluciones extracelulares e intracelulares:

Solución extracelular para registros de pinza de voltaje: NaCl (145 mM), KCl (5,4 mM), CaCl₂ (2 mM), MgCl₂ (1 mM), HEPES (10 mM), glucosa (5 mM), el pH se ajustó a 7,4 con NaOH y la osmolaridad se ajustó a 310 mosM.

25 *Solución intracelular para registros de pinza de voltaje:* metanosulfonato de Cs (85 mM), CsF (35 mM), CsCl (20 mM), NaCl (5 mM), EGTA (5 mM), HEPES (10 mM), el pH se ajustó a 7,3 con CsOH y la osmolaridad se ajustó a 295 mosM.

Protocolo de estudio de pinza de parche de célula completa: los registros de célula completa se efectuaron a temperatura ambiente (22~25 °C) con un amplificador
30 MultiClamp700B conectado a una interfaz Digidata 1550A controlada por el software

Clampex10.6 (Molecular Devices). La velocidad de adquisición fue 20 kHz y las señales se filtraron a 5 kHz. Los electrodos de parche se extrajeron con un extractor de micropipeta P-1000 Flaming/Brown (Sutter Instruments, Novato, CA, EE. UU.). Los electrodos de registro tuvieron una resistencia de 1-1,5 MΩ cuando se llenaron con la solución interna y las resistencias de acceso fueron generalmente <3 MΩ después de la formación de la configuración de célula completa. Los errores de voltaje se minimizaron con compensación de resistencia en serie de 80-90 %. Las células se perfundieron continuamente por gravedad con solución extracelular con una velocidad de 0,5 mL/min y la succión de la solución se implementó mediante una bomba a una velocidad de 35 r. p. m. (bomba peristáltica de tubo Watson-Marlow 120U/DM2, Marlow, Reino Unido) para mantener un nivel de líquido estable. Para el suministro del fármaco, se usó un sistema de perfusión de paso rápido controlado manualmente (SF-77B, Warner Instruments).

En cada registro, se perfundió DMSO al 0,1 % durante 2 min para monitorear el valor de referencia y el compuesto se aplicó durante 6 min para asegurar que la inhibición alcanzara el estado estacionario.

Protocolo de registro de pinza de voltaje: los efectos de los compuestos se evaluaron mediante un protocolo de reposo de un solo pulso en el cual las células se despolarizaron hasta 0 mV durante 50 ms a partir de un voltaje de mantenimiento de -120 mV. Las amplitudes de corriente máxima se midieron a partir de las corrientes activadas a 0 mV. La estimulación se aplicó cada 20 s.

Compuestos de prueba: el compuesto se disolvió en DMSO a 10 mM como concentración máxima. Para el estudio de respuesta a la dosis, se prepararon soluciones madre en DMSO con concentraciones que variaron de 0,1 mM a 10 mM. Se produjeron diferentes concentraciones de trabajo en solución extracelular mediante dilución 1:1000 de cada solución madre. Para el grupo del vehículo, se usó DMSO al 0,1 % en solución extracelular como control negativo.

Medición y normalización de amplitudes de corriente de Nav1.8: las corrientes máximas de Nav1.8 provocadas por el pulso de prueba de 0 mV se midieron y analizaron mediante el software Clampfit 10.6 (Molecular Devices, EE. UU.). En cada registro, todas las amplitudes (I) de corriente máxima adquiridas en diferentes puntos temporales se normalizaron al primer punto de datos (I₀) a tiempo cero para obtener los valores I/I₀.

Análisis de la inhibición de los compuestos: el efecto de inhibición de los compuestos

se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = ([I/I_0]_{\text{ctrl}} - [I/I_0]_{\text{comp.}}) / [I/I_0]_{\text{ctrl}} * 100$$

$[I/I_0]_{\text{ctrl}}$ es la I/I_0 promedio de los 3 barridos finales durante el valor de referencia mientras se aplica DMSO al 0,1 %; $[I/I_0]_{\text{comp.}}$ es la I/I_0 promedio de los 3 barridos finales durante la aplicación del compuesto donde la inhibición alcanzó el estado estacionario.

Estadística y visualización de datos en GraphPad Prism: para generar los gráficos, los datos normalizados y la tasa de inhibición calculada a partir cada registro se pegaron en Prism 8.0 o 9.0 (Graphpad Software, San Diego, California, EE. UU.). Los ajustes de las curvas de respuesta a la dosis se llevaron a cabo con Prism usando una ecuación de Hill de cuatro parámetros: $E = (E_{\text{máx.}} - E_{\text{mín.}}) / [1 + (IC_{50}/C)^h] + E_{\text{mín.}}$, donde E es la respuesta, $E_{\text{máx.}}$ y $E_{\text{mín.}}$ son la respuesta máxima y mínima, respectivamente, no hay restricción en $E_{\text{máx.}}$ y $E_{\text{mín.}}$ está restringida a cero. IC_{50} es la concentración correspondiente al efecto inhibidor semimáximo, C es la concentración del fármaco y h es el coeficiente de Hill o la pendiente de Hill.

Resultados

La potencia del compuesto del Ejemplo 4A se evaluó en cuatro experimentos separados con tres lotes sintéticos diferentes y la potencia del compuesto del Ejemplo 5A se evaluó en un solo experimento. La IC_{50} (concentración a la que se observó una inhibición del 50 % de Nav1.8) medida para cada compuesto se presenta en la siguiente Tabla 6. Los resultados demuestran que el compuesto del Ejemplo 4A es un inhibidor más potente de Nav1.8 que el compuesto del Ejemplo 5A.

Tabla 6: resultados del ensayo mediante electrofisiología de pinza de parche manual

Compuesto	IC_{50} (nM)
Ejemplo 4A ^a	$0,8 \pm 0,2$
Ejemplo 5A ^b	2,2

^a El resultado reportado es el promedio de cuatro experimentos separados con tres lotes sintéticos diferentes de compuesto.

^b El resultado reportado es de un solo experimento