

DERIVADOS DE BENZIMIDAZOL CÍCLICO COMO INHIBIDORES DE cGAS

1. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1.1 Inhibidores de cGAS

La inmunidad innata se considera una respuesta de estrés celular de primera línea que defiende a la célula huésped contra los patógenos invasores e inicia la señalización al sistema inmunitario adaptativo. Estos procesos son desencadenados por patrones moleculares asociados a patógenos conservados (PAMP) a través de la detección de diversos receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y la activación posterior de la expresión génica de citocinas e interferón tipo I. Las principales células presentadoras de antígenos, tales como los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas, producen interferones de tipo I y son fundamentales para provocar respuestas adaptativas del sistema inmunitario de linfocitos T y B. Los principales PRR detectan ácidos nucleicos anormales, es decir, mal localizados, inmaduros o no modificados, ya sea en la superficie celular, en el interior de las membranas lisosomales o dentro de otros compartimentos celulares (Barbalat *et al.*, Annu. Rev. Immunol. 29, 185-214 (2011)).

"GMP-AMP sintasa cíclica" (**cGAS**, UniProtKB - Q8N884)) es el sensor predominante para el ADN bicatenario anormal (dsADN) originado por patógenos o la mala localización o el mal procesamiento del dsADN celular nuclear o mitocondrial (Sun *et al.*, Science 339, 786-791 (2013); Wu *et al.*, Science 339, 826-830 (2013); Ablasser *et al.*, Nature 498, 380-384 (2013)). La unión de dsADN a cGAS activa la reacción de GTP y ATP para formar el dinucleótido GMP-AMP cíclico (denominado cGAMP). Luego, cGAMP se desplaza hasta la proteína adaptadora anclada a la membrana del retículo endoplasmático, el "estimulador de los genes del interferón" (**STING**), y la activa. STING activado recluta y activa la quinasa 1 de unión a TANK (**TBK1**) que a su vez fosforila la familia de factores de transcripción de factores reguladores de interferón (**IRF**) que inducen la expresión de mRNA de interferón tipo I y citocinas.

La función crucial de cGAS en la detección de dsADN se ha establecido en diferentes bacterias patógenas (Hansen *et al.*, EMBOJ. 33, 1654 (2014)), virus (Ma *et al.*, PNAS 112, E4306 (2015)) y retrovirus (Gao, *et al.*, Science 341, 903-906 (2013)). Además, cGAS es esencial en varios otros procesos biológicos como la senescencia celular (Yang *et al.*, PNAS 114, E4612 (2017), Glück *et al.*, Nat. Cell Biol. 19, 1061-

1070 (2017)) y reconocimiento de micronúcleos rotos en la vigilancia de posibles células cancerosas (Mackenzie *et al.*, Nature 548, 461-465 (2017); Harding *et al.*, Nature 548, 466-470 (2017)).

Si bien la vía de cGAS es importante para la defensa del huésped contra los patógenos invasores, el estrés celular y los factores genéticos también pueden causar la producción de dsADN celular anormal, por ejemplo, por fuga nuclear o mitocondrial y, por lo tanto, desencadenar respuestas autoinflamatorias. El síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS; Crow *et al.*, Nat. Genet. 38, 917-920 (2006)), un trastorno autoinflamatorio grave similar al lupus, surge de mutaciones de pérdida de función en TREX1, una exonucleasa de ADN primaria responsable de degradar el ADN anormal en el citosol. La inactivación de cGAS en ratones deficientes en TREX1 evitó respuestas autoinmunitarias letales, lo que respalda a cGAS como impulsor de interferonopatías (Gray *et al.*, J. Immunol. 195, 1939-1943 (2015); Gao *et al.*, PNAS 112, E5699-E5705 (2015)). Del mismo modo, la letalidad embrionaria causada por la deficiencia de ADNse2, una endonucleasa responsable de la degradación del exceso de ADN en los lisosomas durante la endocitosis, se rescató por completo mediante la inactivación adicional de cGAS (Gao *et al.*, PNAS 112, E5699-E5705 (2015)) o STING (Ahn *et al.*, PNAS 109, 19386-19391 (2012)). Estas observaciones respaldan a cGAS como una diana farmacológica y la inhibición de cGAS puede proporcionar una estrategia terapéutica para prevenir la autoinflamación y tratar enfermedades como lupus eritematoso sistémico (SLE) con la participación de anticuerpos anti-dsADN (Pisetsky *et al.*, Nat. Rev. Rheumatol. 12, 102-110 (2016)).

1.2 Estado de la técnica previo

Debido a la observación de que la inhibición de la vía cGAS puede proporcionar una estrategia terapéutica para prevenir la autoinflamación y para tratar, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias, se realizaron muchos esfuerzos para desarrollar inhibidores de cGAS.

En WO 2019/241787, por ejemplo, se divulgaron metil 4-amino-6-(fenilamino)-1,3,5-triazina-2-carboxilatos tales como CU-32 y CU-76 como inhibidores de cGAS con "valores IC₅₀ de hcGAS in vitro" ligeramente por debajo de 1 µM (IC₅₀(CU-32) = 0,66 µM y IC₅₀(CU-76) = 0,27 µM).

En Hall *et al.*, PLoS ONE 12(9); e0184843 (2017), el compuesto PF-06928215 se publicó como inhibidor de cGAS con un "valor IC₅₀ de hcGAS in vitro" de 0,049 µM según lo medido a través de un ensayo de polarización de fluorescencia. Sin embargo, el compuesto PF-06928215 no mostró actividad celular aceptable como inhibidor de

cGAS.

En WO 2020/142729 y en WO2022/174012, se han divulgado derivados del ácido (benzofuro[3,2-d]pirimidin-4-il)pirrolidin-2-carboxílico como inhibidores de cGAS para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios tales como síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS), lupus eritematoso, esclerodermia, enfermedad inflamatoria intestinal y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Sin embargo, los compuestos de esta invención difieren de los derivados del ácido (benzofuro[3,2-d]pirimidin-4-il)pirrolidin-2-carboxílico del documento WO 2020/142729 en su patrón de sustitución completamente diferente en la posición 4 del anillo de pirrolidina.

Los inhibidores de cGAS proporcionados recientemente, tales como los del documento WO 2020/142729 o en WO 2022/174012, generalmente muestran una potencia inhibidora de cGAS celular insuficiente (con valores IC_{50} con respecto a la inhibición de la vía cGAS/STING de acuerdo con lo medido en ensayos celulares de generalmente más de 1 μM , a menudo más de 5 μM). Sin embargo, es crucial proporcionar inhibidores terapéuticos de cGAS que no solo muestren una potencia inhibitoria bioquímica (in vitro) satisfactoria (" IC_{50} de hcGAS"), sino también una potencia inhibitoria celular satisfactoria (por ejemplo, al mostrar la inhibición de la inducción de IFN en células THP-1 estimuladas por virus ($THP1_{(vir)}$ IC_{50}) con el fin de garantizar que el compuesto sea capaz de mostrar un efecto terapéutico en un paciente. Otras propiedades importantes que pueden ser predictivas para el desarrollo exitoso de un inhibidor de cGAS como agente terapéutico son la satisfacción de la selectividad de cGAS (en comparación con la actividad fuera de la diana) y la potencia inhibidora aceptable en sangre humana completa.

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que los compuestos de la Fórmula I, II o III muestran al mismo tiempo las siguientes tres propiedades:

- un "valor IC_{50} bioquímico (in vitro) satisfactorio con respecto a la inhibición de cGAS" (con una IC_{50} de hcGAS de ≤ 100 nM, preferentemente de ≤ 50 nM, en particular de ≤ 10 nM),
 - una "inhibición satisfactoria de la inducción de IFN en células THP-1 estimuladas por virus (con un IC_{50} de $THP1_{(vir)}$ de ≤ 1 μM , preferentemente de ≤ 500 nM, con mayor preferencia de ≤ 100 nM, en particular de ≤ 50 nM)
- y
- una selectividad satisfactoria para la inhibición de cGAS (con una relación IC_{50} de $THP1_{(cGAMP)}/IC_{50}$ de $THP1_{(vir)}$ de ≥ 10 , con

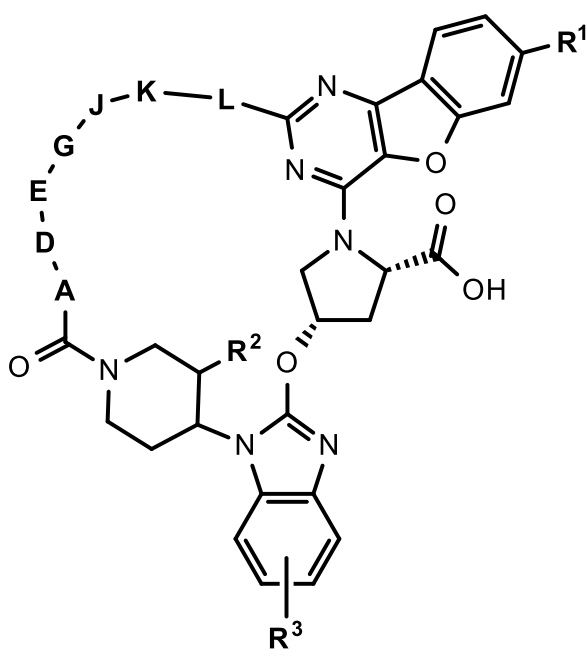
mayor preferencia ≥ 50 , con mayor preferencia ≥ 500 , en particular ≥ 1000).

Además, los compuestos de la Fórmula I, II o III también muestran valores IC_{50} aceptables con respecto a la inhibición de la inducción de IFN en ensayos de sangre humana completa estimulados con dsADN, preferentemente con valores IC_{50} de sangre humana completa con respecto a la inhibición de cGAS. (hWB IC_{50}) de ≤ 5000 nM, con mayor preferencia de ≤ 1000 nM, en particular de ≤ 100 nM.

Los inhibidores de cGAS de la invención con este perfil farmacológico particular que combina una excelente potencia inhibidora *in vitro* y una excelente potencia inhibidora celular con una alta selectividad para la inhibición de cGAS tienen una alta probabilidad de mostrar también un buen efecto terapéutico en el paciente. Debido a su alta potencia de inhibición celular, los compuestos con este perfil farmacológico particular deberían poder atravesar la barrera de la membrana celular y, por lo tanto, alcanzar su ubicación diana intracelular y, debido a su selectividad para inhibir exclusivamente la actividad de cGAS, estos compuestos no deberían mostrar efectos no deseados fuera de la diana, por ejemplo, efectos secundarios en algún lugar dentro de la vía de señalización corriente abajo de cGAS o efectos citotóxicos.

2. DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención se refiere a un compuesto de la Fórmula I



en donde

R^1 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, metilo, etilo, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CFH_2$ y metoxi,

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo,

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo y halógeno,

y en donde

A se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -N(CH₃)-, -NH- y -CHCH₃-;

D se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF- y -CHCH₃-;

E se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -C(CH₃)₂-, -CHF-, CF₂- y -CHCH₃-;

G se selecciona del grupo que consiste en -NH-, -NCH₃-, -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -CHCH₃- y -C(CH₃)₂-;

J se selecciona del grupo que consiste en -CO-, -CH₂-, -O-, -CHF-, -CF₂- y -CHCH₃-;

K se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂-, -O- o está ausente;

L se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CHCH₃-, -CHF-, -CF₂- o está ausente;

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, las variables **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se seleccionan preferentemente de modo tal que dos o más heteroátomos no puedan estar directamente después de los demás.

En una forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, Cl y F,

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo,

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, Cl y F,

y en donde

A se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CF₂-, -N(CH₃)-,

D se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O- y -CHCH₃-,

E se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O- y -C(CH₃)₂-,

G se selecciona del grupo que consiste en -NH-, -CH₂-, -O-, -CHCH₃-,

J se selecciona del grupo que consiste en -CO-, -CH₂-, -O- y -CHCH₃-;

K se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂-, -O- o está ausente;

L se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂- o está ausente;

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, las variables **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se seleccionan preferentemente de

modo tal que dos o más heteroátomos no puedan estar directamente después de los demás.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **L** está ausente, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **L** está ausente y en donde **A** se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CF}_2-$, y profármacos, sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos o análogos deuterados de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **L** está ausente y en donde **K** es CF_2 , y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **R³** es halógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, se prefiere particularmente que **R³** sea un átomo de halógeno seleccionado del grupo que consiste en Cl y F.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **R³** es Cl o F y se ubica en la posición 5 de la porción benzimidazol, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

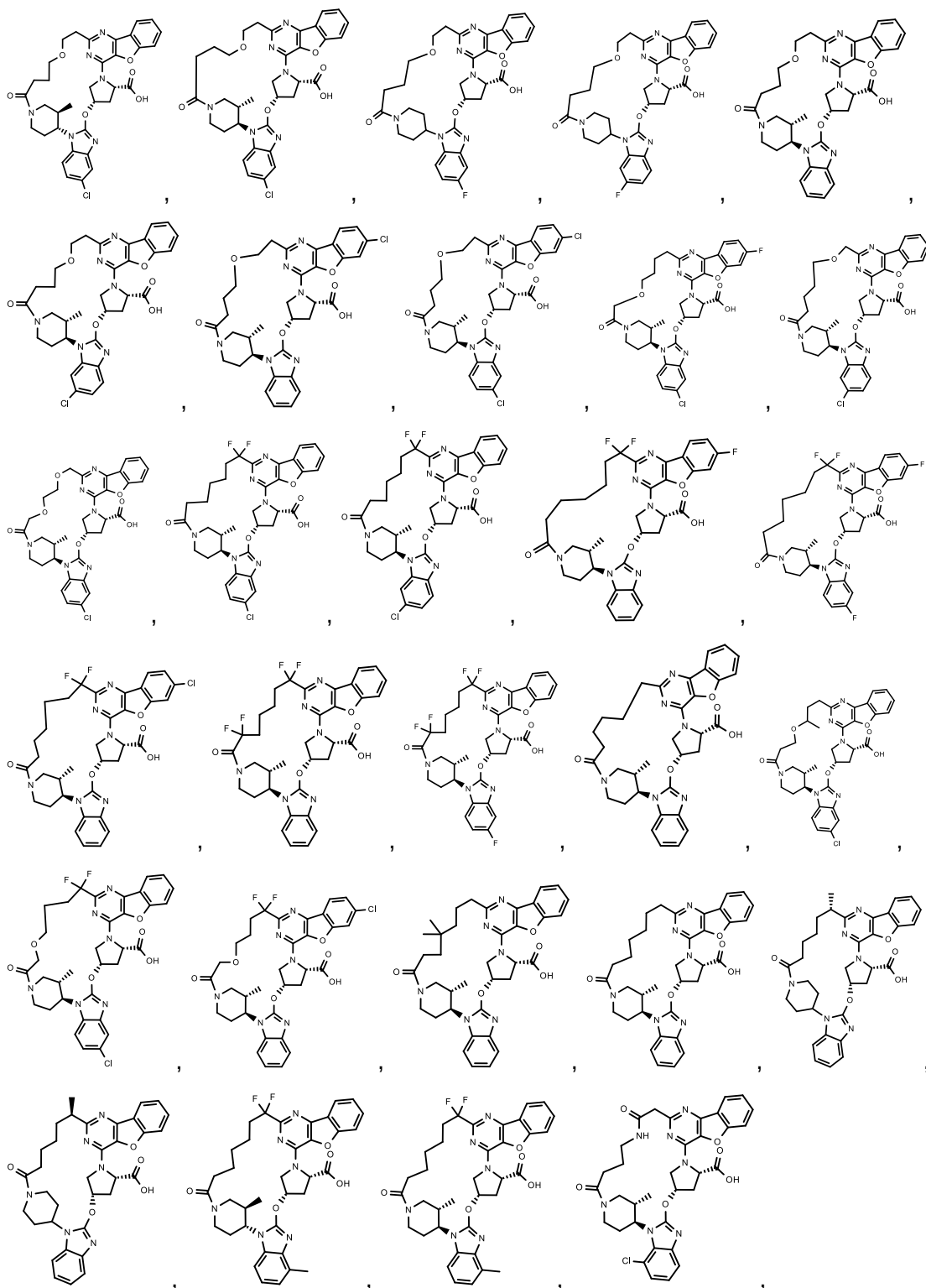
En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **R¹** es halógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

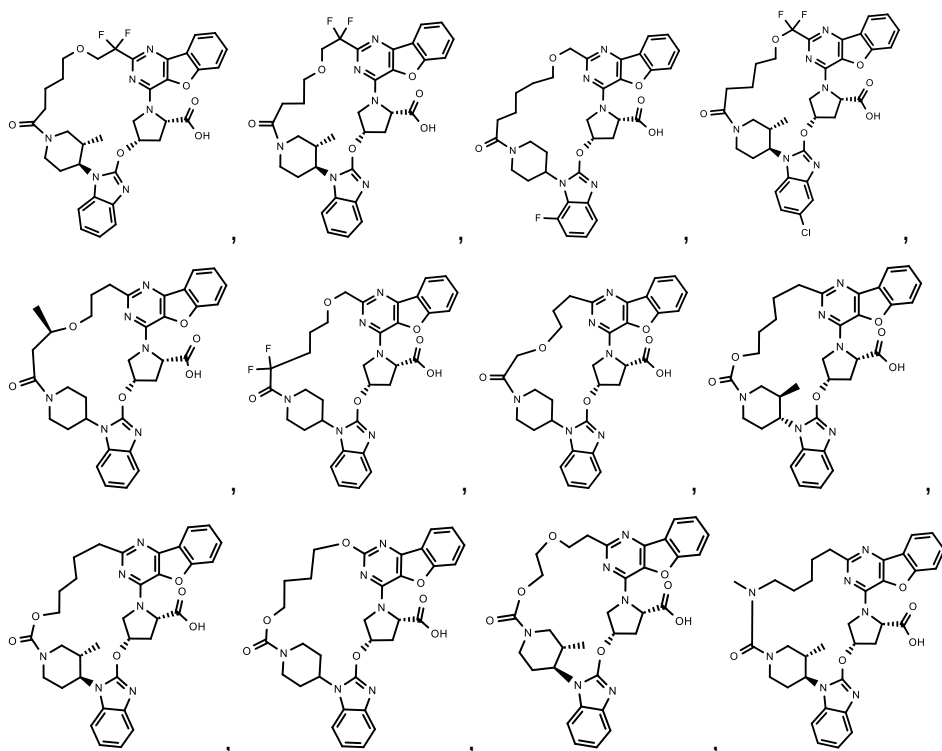
En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **R¹** es Cl o F, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde **R¹** es hidrógeno, y

profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I que se selecciona del grupo que consiste en





y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde

A se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CF}_2-$,

cada uno de **D** y **E** es $-\text{CH}_2-$,

G se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{O}-$,

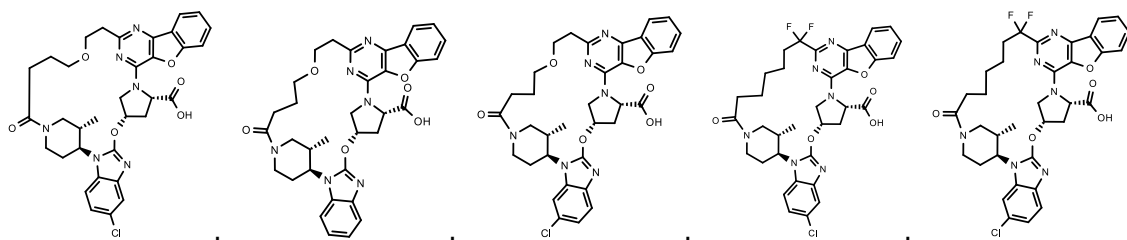
J se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{O}-$,

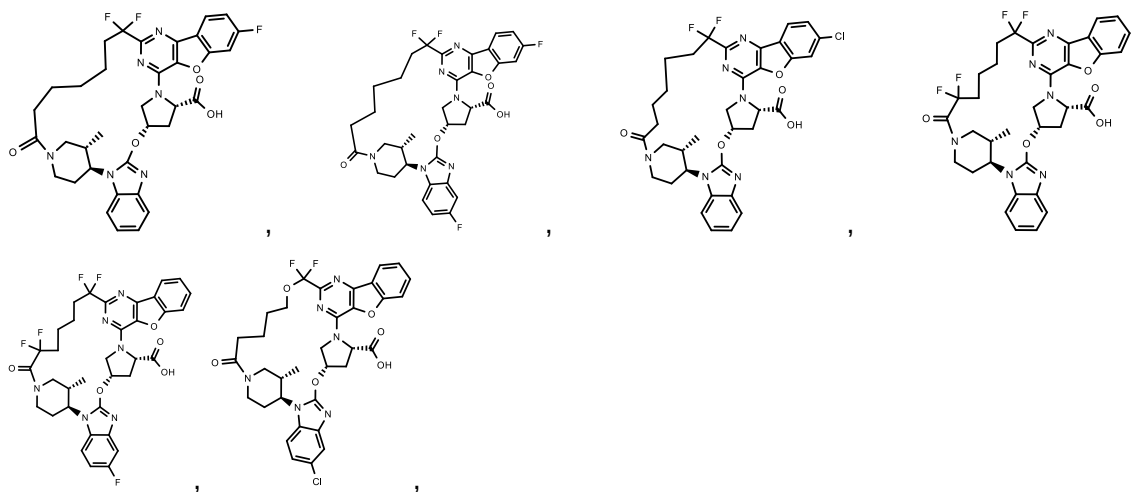
K se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CF}_2-$ y $-\text{CH}_2-$,

y **L** está ausente,

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I que se selecciona del grupo que consiste en

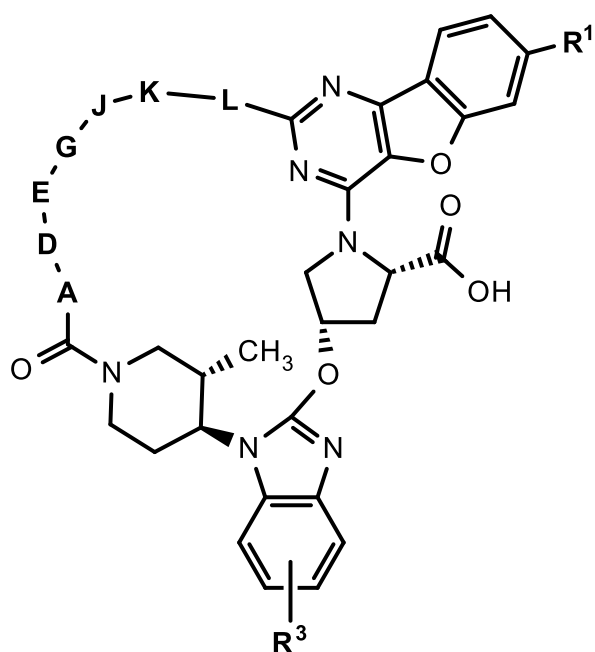




y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

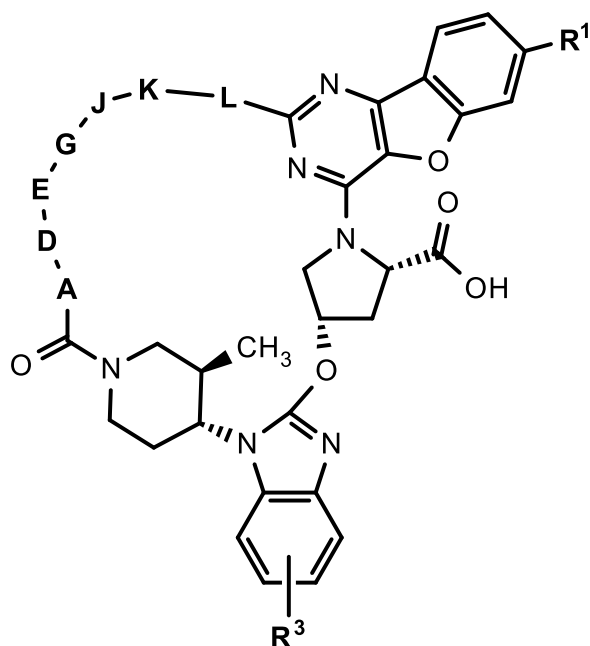
En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, en donde R_2 es metilo, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto de la Fórmula II



II

o el compuesto de la Fórmula III



III,

en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y halógeno,

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo y halógeno,

y en donde

A se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{N}(\text{CH}_3)-$, $-\text{NH}-$ y $-\text{CHCH}_3-$;

D se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{CHF}-$ y $-\text{CHCH}_3-$;

E se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-\text{CHF}-$, CF_2- y $-\text{CHCH}_3-$;

G se selecciona del grupo que consiste en -NH-, -NCH₃-, -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -CHCH₃- y -C(CH₃)₂;

J se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CO}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{CF}_2-$ y $-\text{CHCH}_3-$:

K se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂-, -O- o está ausente;

L se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CHCH₃-, -CHF-, -CF₂- o está ausente;

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, las variables **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se seleccionan preferentemente de modo tal que dos o más heteroátomos no puedan estar directamente después de los demás.

Se prefiere aun más el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o la Fórmula III,

en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, Cl y F,

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, Cl y F,

y en donde

A se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O-, -CF₂- y -N(CH₃)-,

D se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O- y -CHCH₃-,

E se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -O- y -C(CH₃)₂-,

G se selecciona del grupo que consiste en -NH-, -CH₂-, -O-, -CHCH₃-,

J se selecciona del grupo que consiste en -CO-, -CH₂-, -O- y -CHCH₃-;

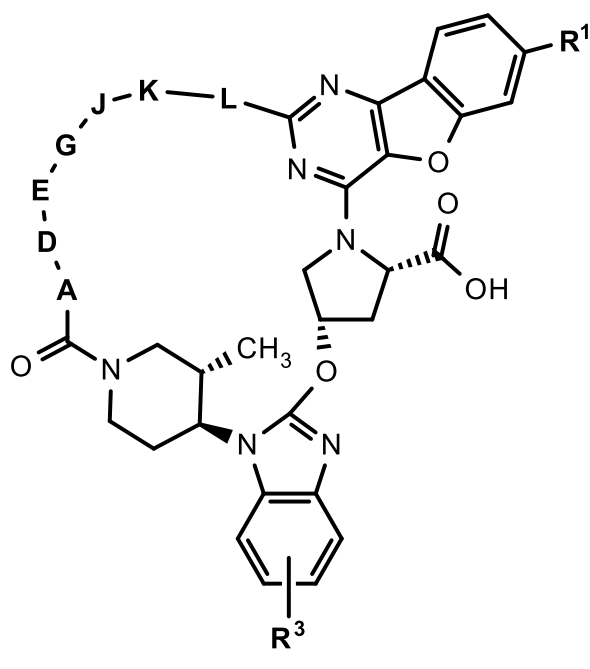
K se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂-, -O- o está ausente;

L se selecciona del grupo que consiste en -CH₂-, -CF₂- o está ausente;

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, las variables **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se seleccionan preferentemente de modo tal que dos o más heteroátomos no puedan estar directamente después de los demás.

Se prefiere particularmente el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II,



en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, Cl y F,

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, Cl y F,

y en donde

A se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{CF}_2-$ y $-\text{N}(\text{CH}_3)-$,

D se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$ y $-\text{CHCH}_3-$,

E se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$ y $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$,

G se selecciona del grupo que consiste en $-\text{NH}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{CHCH}_3-$,

J se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CO}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$ y $-\text{CHCH}_3-$;

K se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{O}-$ o está ausente;

L se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-\text{CF}_2-$ o está ausente;

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

Aquí, las variables **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se seleccionan preferentemente de modo tal que dos o más heteroátomos no puedan estar directamente después de los demás.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **II** o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **III**, en donde **L** está ausente, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **II** o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **III**, en donde **L** está ausente y en donde **K** es CF_2 , y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **II** o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **III**, en donde **R³** es halógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **II** o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **III**, en donde **R³** es Cl o F , y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **II** o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **III**, en donde **R³** es Cl o F y se ubica en la posición 5 de la porción benzimidazol, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto

mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde R^3 es hidrógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde R^1 es halógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde R^1 se selecciona del grupo que consiste en Cl o F, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde R^1 es hidrógeno, y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde

A se selecciona del grupo que consiste en $-CH_2-$ y $-CF_2-$,

cada uno de **D** y **E** es $-CH_2-$,

G se selecciona del grupo que consiste en $-CH_2-$ y $-O-$,

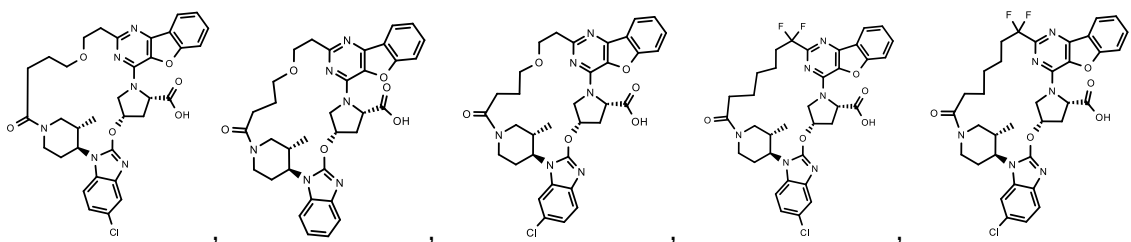
J se selecciona del grupo que consiste en $-CH_2-$ y $-O-$,

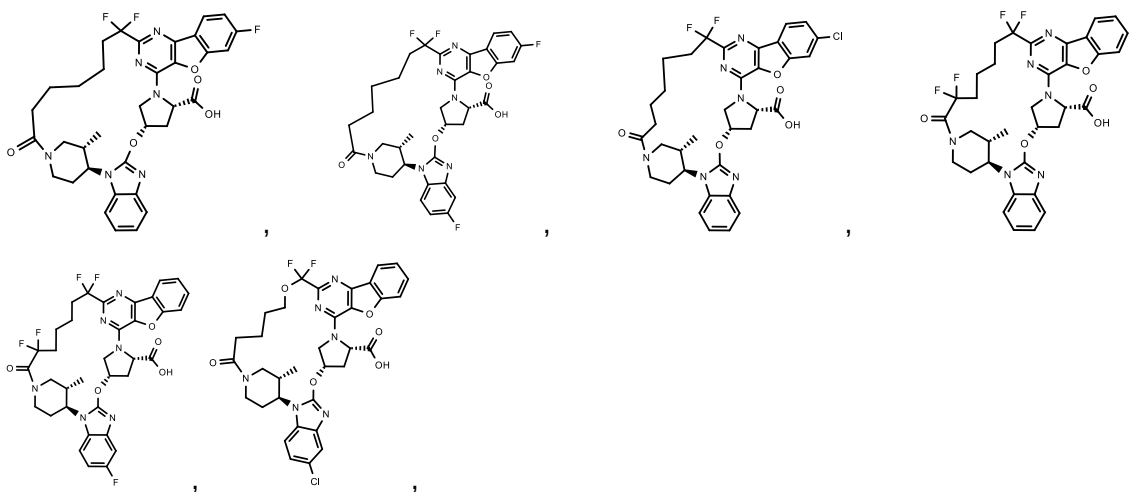
K se selecciona del grupo que consiste en $-CF_2-$ y $-CH_2-$,

y **L** está ausente,

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II, que se selecciona del grupo que consiste en





y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En una forma de realización particularmente preferida adicional, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II o el compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula III, en donde

A se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CF}_2-$,

cada uno de **D**, **E** y **G** es $-\text{CH}_2-$,

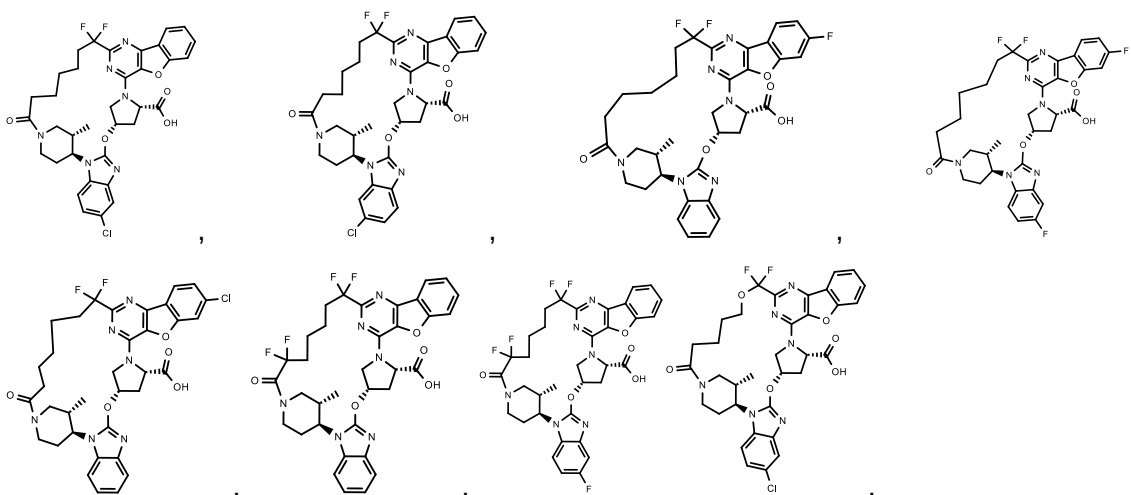
J se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{O}-$,

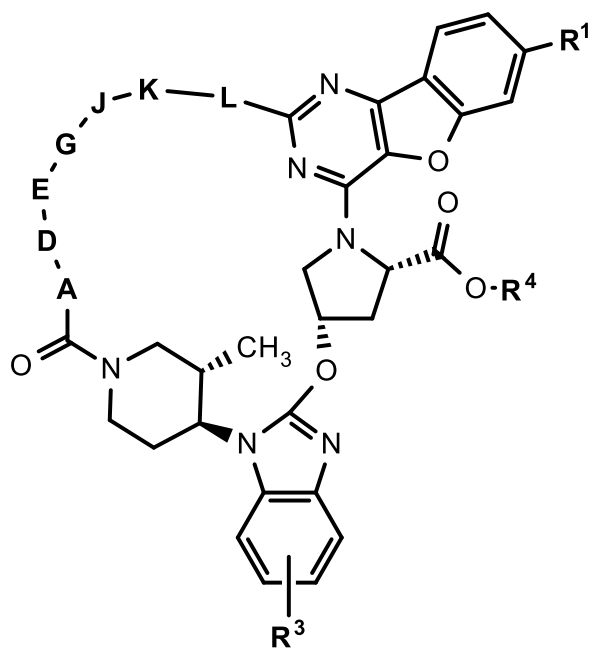
K es $-\text{CF}_2-$,

y **L** está ausente,

y profármacos, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos.

En otra forma de realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula II, que se selecciona del grupo que consiste en



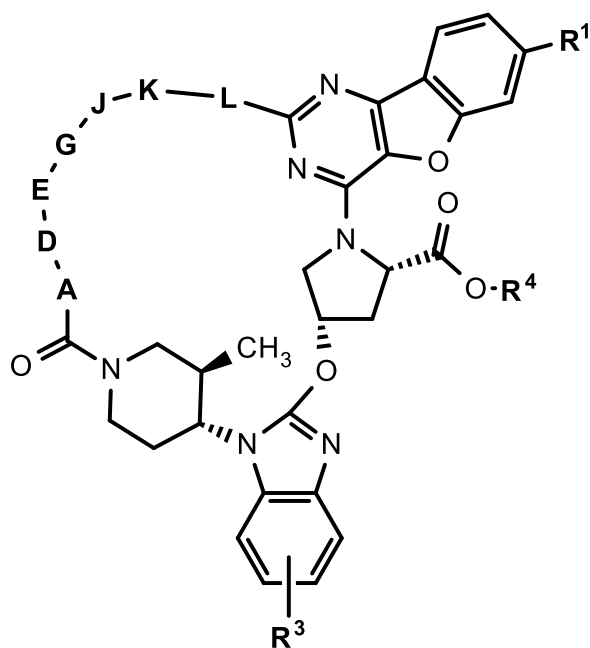
**IIa,**

en donde las variables R^1 , R^2 , R^3 , A , D , E , G , J , K y L se definen como se mencionó anteriormente y

en donde R^4 es C_{1-4} -alquilo, arilo, $-CH_2$ -arilo, $NH-SO_2-C_{1-3}$ -alquilo.

Se prefieren particularmente los profármacos de la Fórmula **IIa**, en donde las variables R^1 , R^2 , R^3 , A , D , E , G , J , K y L se definen como se mencionó anteriormente y en donde R^4 es metilo.

Los profármacos de los compuestos de la Fórmula **III** son preferentemente compuestos de la Fórmula **IIIa**

**IIIa,**

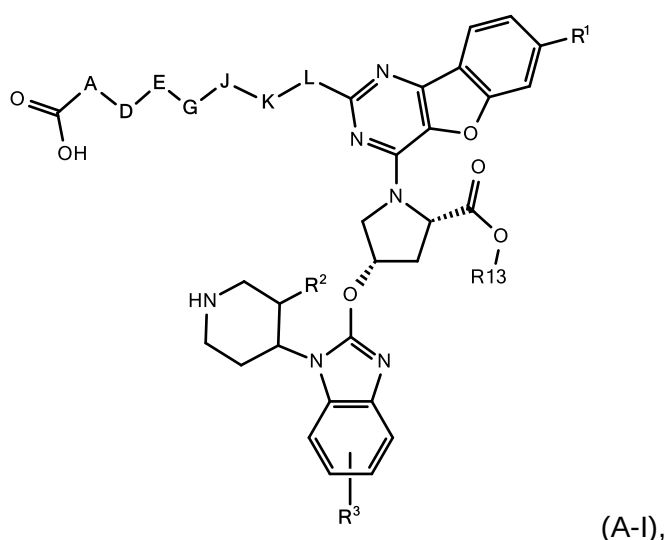
en donde las variables **R¹**, **R²**, **R³**, **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se definen como se mencionó anteriormente y

en donde **R⁴** es C₁₋₄-alquilo, arilo, -CH₂-arilo, NH-SO₂-C₁₋₃-alquilo.

Se prefieren particularmente los profármacos de la Fórmula **IIIa**, en donde las variables **R¹**, **R²**, **R³**, **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se definen como se mencionó anteriormente y en donde **R⁴** es metilo.

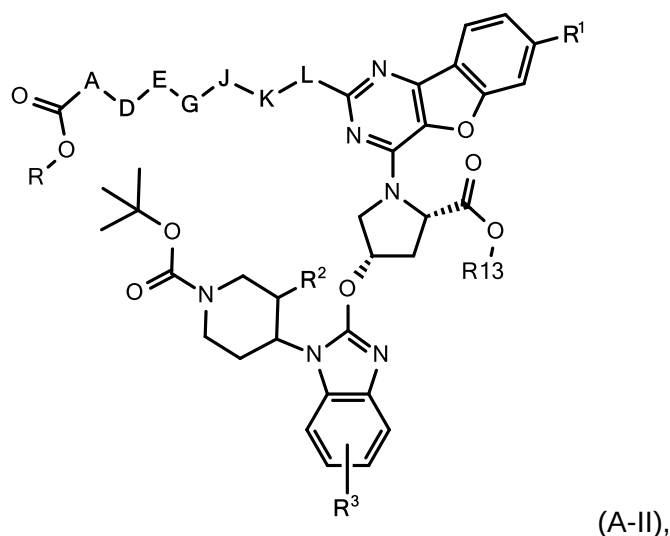
En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a

a) compuestos intermediarios de la Fórmula (A-I)



en donde **R¹**, **R²**, **R³**, **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se definen como se mencionó anteriormente y en donde R₁₃ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, etilo y ter-butilo,

b) compuestos intermediarios de la Fórmula (A-II),

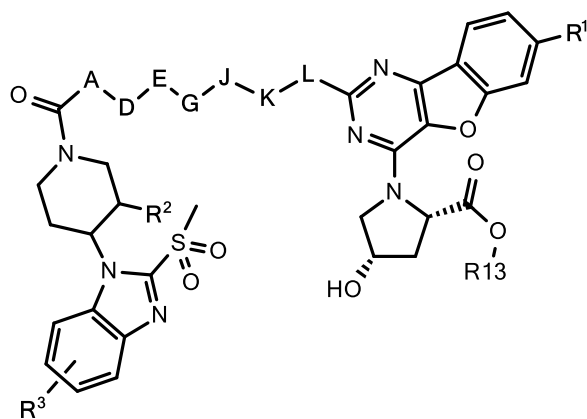


en donde **R¹**, **R²**, **R³**, **A**, **D**, **E**, **G**, **J**, **K** y **L** se definen como se mencionó anteriormente

y en donde R¹³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, etilo y ter-butilo,

y en donde **R** es hidrógeno o un grupo protector seleccionado del grupo que consiste en ter-butilo, metilo, etilo y bencilo,

c) compuestos intermediarios de la Fórmula (B-I)

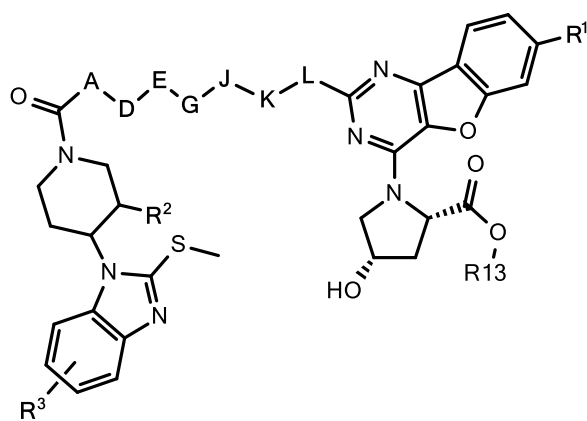


(B-I),

en donde **R¹, R², R³, A, D, E, G, J, K y L** se definen como se mencionó anteriormente y en donde R¹³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, etilo y ter-butilo,

o

d) compuestos intermediarios de la Fórmula (B-II)



(B-II),

en donde **R¹, R², R³, A, D, E, G, J, K y L** se definen como se mencionó anteriormente y en donde R¹³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, etilo y ter-butilo.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere a un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I, II o III** o un profármaco de la Fórmula **la, Ila o IIIa**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad que puede

tratarse mediante la inhibición de cGAS.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere a un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en lupus sistémico eritematoso (SLE), interferonopatías, síndrome de Aicardi-Goutières (AGS), síndrome de COPA, lupus pernicio familiar, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinopatía, glaucoma, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), diabetes, obesidad, enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de Bloom, síndrome de Sjogren, enfermedad de Parkinson, insuficiencia cardíaca y cáncer, esclerosis sistémica (SSc), dermatomiositis, hepatitis esteatósica no alcohólica (NASH), enfermedad pulmonar intersticial (ILD), preferentemente enfermedad pulmonar intersticial fibrosante progresiva (PF-ILD), en particular fibrosis pulmonar idiopática (IPF), envejecimiento, trastornos musculares, sepsis, artritis reumatoide, osteoartritis y COVID-19.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en lupus sistémico eritematoso (SLE), interferonopatías, síndrome de Aicardi-Goutières (AGS), síndrome de COPA, lupus pernicio familiar, dermatomiositis, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de Bloom, síndrome de Sjogren, artritis reumatoide y enfermedad de Parkinson.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere a un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en esclerosis sistémica (SSc), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), interferonopatías, enfermedad pulmonar intersticial (ILD), preferentemente enfermedad pulmonar intersticial fibrosante progresiva (PF-ILD), en particular fibrosis pulmonar idiopática (IPF).

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a un compuesto

mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinopatía, glaucoma, diabetes, obesidad, envejecimiento, trastornos musculares, sepsis, osteoartritis, insuficiencia cardíaca, infección por COVID-19/SARS-CoV-2, inflamación renal, fibrosis renal, dismetabolismo, enfermedades vasculares, enfermedades cardiovasculares y cáncer.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, y opcionalmente uno o más portadores y/o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, en combinación con uno o más agentes activos seleccionados del grupo que consiste en agentes antiinflamatorios, agentes antifibróticos, agentes antialérgicos/antihistamínicos, broncodilatadores, agonistas beta 2/betamiméticos, agonistas adrenérgicos, agentes anticolinérgicos, metotrexato, micofenolato de mofetilo, moduladores de leucotrienos, inhibidores de JAK, anticuerpos antiinterleucina, agentes inmunoterapéuticos no específicos, tales como interferones u otras citocinas/quimiocinas, moduladores de los receptores de citocinas/quimiocinas, agonistas de receptores tipo toll, reguladores del punto de control inmunitario, un anticuerpo anti-TNF, tal como Humira™, un anticuerpo anti-BAFF, tal como belimumab y etanercept, y opcionalmente uno o más portadores y/o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula **I**, **II** o **III** o un profármaco de la Fórmula **Ia**, **Ila** o **IIla**, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, y uno o más agentes antifibróticos seleccionados del grupo que consiste en pirfenidona y nintedanib y opcionalmente uno o más portadores y/o excipientes aceptables desde el

punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, II o III o un profármaco de la Fórmula Ia, IIa o IIIa, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, y uno o más agentes antiinflamatorios seleccionados del grupo que consiste en NSAID y corticosteroides y opcionalmente uno o más portadores y/o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización preferida adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, II o III o un profármaco de la Fórmula Ia, IIa o IIIa, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, y uno o más agentes activos seleccionados del grupo que consiste en broncodilatadores, agonistas beta 2/betamiméticos, agonistas adrenérgicos y agentes anticolinérgicos y opcionalmente uno o más portadores y/o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización preferida, la invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto mencionado anteriormente de la Fórmula I, II o III o un profármaco de la Fórmula Ia, IIa o IIIa, análogos deuterados y sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos, y uno o más anticuerpos antiinterleucina seleccionados del grupo que consiste en anti-IL-23, tal como risankizumab, anticuerpos anti-IL-17, anticuerpos anti-IL-1, anticuerpos anti-IL-4, anticuerpos anti-IL-13, anticuerpos anti-IL-5, anticuerpos anti-IL-6, tales como Actemra™, anticuerpos anti-IL-12 y anticuerpos anti-IL-15.

3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES USADOS

A menos que se indique lo contrario, todos los sustituyentes son independientes entre sí. Si, por ejemplo, varios grupos C₁₋₆-alquilo son posibles sustituyentes en un grupo, en el caso de tres sustituyentes, por ejemplo, C₁₋₆-alquilo podría representar, independientemente uno del otro, un metilo, un n-propilo y un *ter*-butilo.

Un enlace cruzado como el enlace central en la siguiente molécula de butilo

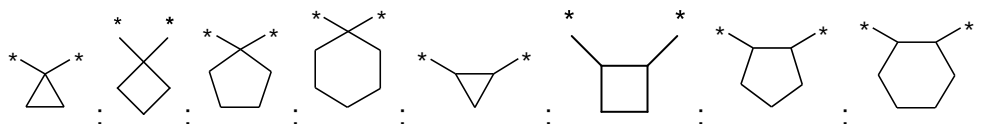


representa un enlace doble de configuración desconocida (ya sea *cis*, *trans* o una mezcla de estas).

Por la expresión " C_{1-6} -alquilo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende los grupos alquilo ramificados y no ramificados con 1 a 6 átomos de carbono y por la expresión " C_{1-3} -alquilo" se entiende los grupos alquilo ramificados y no ramificados de 1 a 3 átomos de carbono. En consecuencia, " C_{1-4} -alquilo" indica grupos alquilo ramificados y no ramificados con 1 a 4 átomos de carbono. Se prefieren los grupos alquilo con 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de estos incluyen metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, *ter*-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, neo-pentilo y hexilo. Las abreviaturas Me, Et, n-Pr, i-Pr, n-Bu, i-Bu, t-Bu, etc., también pueden utilizarse opcionalmente para los grupos mencionados anteriormente. A menos que se indique lo contrario, las definiciones de propilo, butilo, pentilo y hexilo incluyen todas las posibles formas isoméricas de los grupos en cuestión. Así, por ejemplo, propilo incluye n-propilo e iso-propilo, butilo incluye iso-butilo, sec-butilo y *ter*-butilo, etc.

Por la expresión " C_{1-6} -alquileo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende los grupos alquileo ramificados y no ramificados con 1 a 6 átomos de carbono y por la expresión " C_{1-4} -alquileo" se entiende los grupos alquileo ramificados y no ramificados de 1 a 4 átomos de carbono. Se prefieren los grupos alquileo con 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de estos incluyen metileno, etileno, propileno, 1-metiletileno, butileno, 1-metilpropileno, 1,1-dimetiletileno, 1,2-dimetiletileno, pentileno, 1,1-dimetilpropileno, 2,2-dimetilpropileno, 1,2-dimetilpropileno, 1,3-dimetilpropileno y hexileno. A menos que se indique lo contrario, las definiciones de propileno, butileno, pentileno y hexileno incluyen todas las posibles formas isoméricas de los grupos en cuestión con la misma cantidad de carbonos. Así, por ejemplo, propilo incluye también 1-metiletileno y butileno incluye 1-metilpropileno, 1,1-dimetiletileno, 1,2-dimetiletileno, etc.

Si la cadena de carbono está sustituida por un grupo que junto con uno o dos átomos de carbono de la cadena de alquileo forma un anillo carbocíclico de 3, 5 o 6 átomos de carbono, esto incluye, entre otros, los siguientes ejemplos de anillos:



Por la expresión " C_{2-6} -alqueno" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende los grupos alqueno ramificados y no ramificados con 2 a 6 átomos de carbono y por la expresión " C_{2-4} -alqueno" se entiende los grupos alqueno ramificados y no ramificados con 2 a 4 átomos de carbono, siempre que tengan al

menos un enlace doble. Se prefieren los grupos alquenilo con 2 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen: etenilo o vinilo, propenilo, butenilo, pentenilo o hexenilo. A menos que se indique lo contrario, las definiciones de propenilo, butenilo, pentenilo y hexenilo incluyen todas las posibles formas isómericas de los grupos en cuestión. Así, por ejemplo, propenilo incluye 1-propenilo y 2-propenilo, butenilo incluye 1-, 2- y 3-butenilo, 1-metil-1-propenilo, 1-metil-2-propenilo, etc.

Por la expresión " C_{2-5} -alquinilo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende los grupos alquinilo ramificados y no ramificados con 2 a 5 átomos de carbono y por la expresión " C_{2-4} -alquinilo" se entiende los grupos alquinilo ramificados y no ramificados con 2 a 4 átomos de carbono, siempre que tengan al menos un enlace triple. Se prefieren los grupos alquinilo con 2 a 4 átomos de carbono.

Por la expresión " C_{2-6} -alquenileno" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende los grupos alquenileno ramificados y no ramificados con 2 a 6 átomos de carbono y por la expresión " C_{2-4} -alquenileno" se entiende los grupos alquileno ramificados y no ramificados con 2 a 4 átomos de carbono. Se prefieren los grupos alquenileno con 2 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de estos incluyen: etenileno, propenileno, 1-metiletlenileno, butenileno, 1-metilpropenileno, 1,1-dimetiletlenileno, 1,2-dimetiletlenileno, pentenileno, 1,1-dimetilpropenileno, 2,2-dimetilpropenileno, 1,2-dimetilpropenileno, 1,3-dimetilpropenileno y hexenileno. A menos que se indique lo contrario, las definiciones de propenileno, butenileno, pentenileno y hexenileno incluyen todas las posibles formas isómericas de los grupos en cuestión con la misma cantidad de carbonos. Así, por ejemplo, propenilo también incluye 1-metiletlenileno y butenileno incluye 1-metilpropenileno, 1,1-dimetiletlenileno, 1,2-dimetiletlenileno.

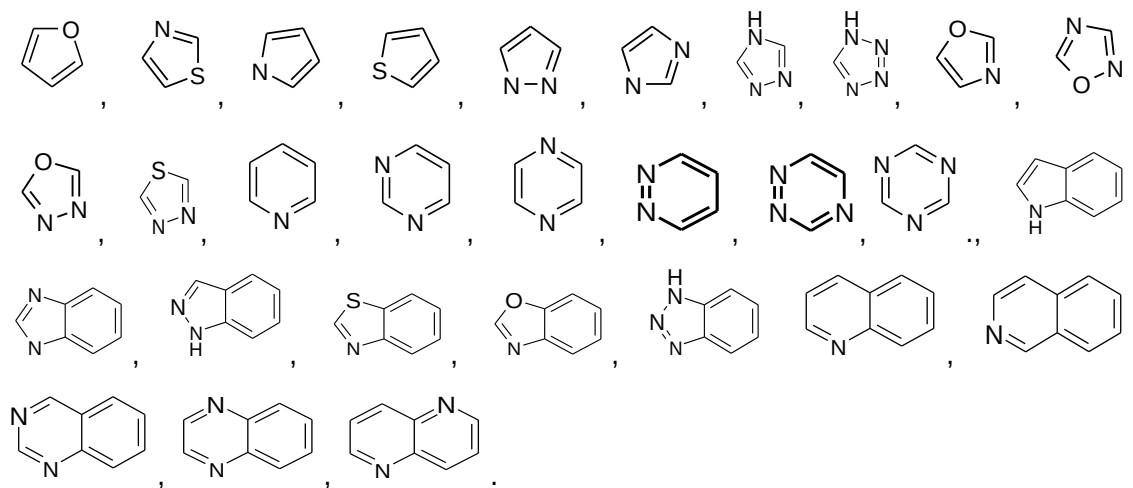
Por la expresión arilo (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende sistemas de anillos aromáticos con 6 o 10 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen fenilo o naftilo, en donde fenilo es el grupo arilo preferido. A menos que se indique lo contrario, los grupos aromáticos pueden estar sustituidos por uno o más grupos seleccionados de metilo, etilo, isopropilo, *ter*-butilo, hidroxilo, flúor, cloro, bromo y yodo.

Por la expresión "aril- C_{1-6} -alquileno" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende grupos alquileno ramificados y no ramificados con 1 a 6 átomos de carbono, que están sustituidos por un sistema de anillo aromático con 6 o 10 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen bencilo, 1- o 2-feniletilo y 1- o 2-naftiletilo. A menos que se indique lo contrario, los grupos aromáticos pueden estar sustituidos por

uno o más grupos seleccionados de metilo, etilo, isopropilo, *ter*-butilo, hidroxilo, flúor, cloro, bromo y yodo.

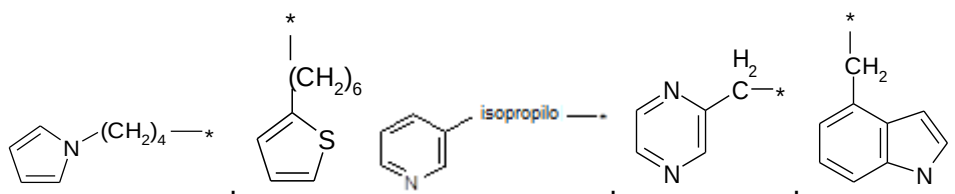
Por la expresión "heteroaril-C₁₋₆-alquileo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende, aunque ya están incluidos en "aril-C₁₋₆-alquileo" grupos alquileo ramificados y no ramificados con 1 a 6 átomos de carbono, que están sustituidos por un heteroarilo.

Si no se define específicamente de otro modo, un heteroarilo de este tipo incluye grupos aromáticos heterocíclicos de cinco o seis miembros o anillos heteroarilo bicíclicos de 5 a 10 miembros que pueden contener uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, y contienen tantos enlaces dobles conjugados que se forma un sistema aromático. Los siguientes son ejemplos de grupos aromáticos heterocíclicos de cinco o seis miembros y anillos heteroarilo bicíclicos:



A menos que se indique lo contrario, estos heteroarilos pueden estar sustituidos por uno o más grupos seleccionados de metilo, etilo, isopropilo, *ter*-butilo, hidroxilo, amino, nitro, alcoxi, flúor, cloro, bromo y yodo.

Los siguientes son ejemplos de heteroaril-C₁₋₆-alquilenos:



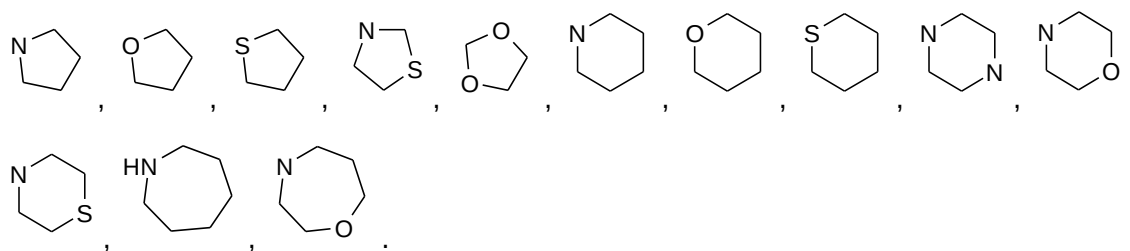
Por la expresión "C₁₋₆-haloalquilo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) se entiende grupos alquilo ramificados y no ramificados con 1 a 6 átomos de carbono, que están sustituidos por uno o más átomos de halógeno. Por la expresión "C₁₋₄-haloalquilo" se entiende grupos alquilo ramificados y no ramificados con 1 a 4

átomos de carbono, que están sustituidos por uno o más átomos de halógeno. Se prefieren los grupos alquilo con 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen: CF_3 , CHF_2 , CH_2F , CH_2CF_3 .

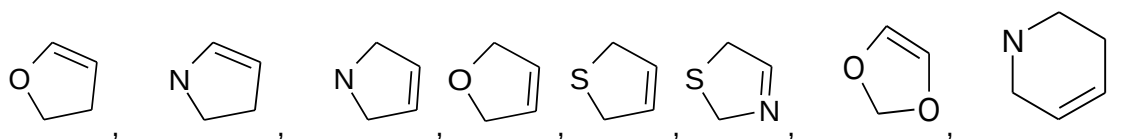
Por la expresión " C_{3-7} -cicloalquilo" (que incluye los que forman parte de otros grupos) grupos alquilo cíclicos con 3 a 7 átomos de carbono, si no se define específicamente de otro modo. Los ejemplos incluyen: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. A menos que se indique lo contrario, los grupos alquilo cíclicos pueden estar sustituidos por uno o más grupos seleccionados de metilo, etilo, isopropilo, *ter*-butilo, hidroxilo, flúor, cloro, bromo y yodo.

Si no se define específicamente de otro modo, por la expresión " C_{3-10} -cicloalquilo" también se entiende grupos alquilo monocíclicos con 3 a 7 átomos de carbono y también grupos alquilo bicíclicos con 7 a 10 átomos de carbono, o grupos alquilo monocíclicos que están unidos por al menos un puente de C_{1-3} -carbono.

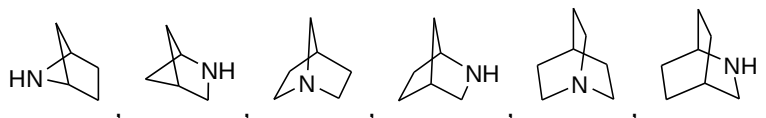
Por la expresión "anillos heterocíclicos" o "heterociclo" se entiende, a menos que se indique lo contrario, anillos heterocíclicos de cinco, seis o siete miembros, saturados, parcialmente saturados o insaturados que pueden contener uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, mientras que el anillo puede estar unido a la molécula a través de un átomo de carbono o a través de un átomo de nitrógeno, si lo hubiera. Si bien está incluida en la expresión "anillos heterocíclicos" o "heterociclos", la expresión "anillo heterocíclico saturado" se refiere a anillos saturados de cinco, seis o siete miembros. Los ejemplos incluyen:



Si bien está incluida en la expresión "anillos heterocíclicos" o "grupo heterocíclico", la expresión "grupo heterocíclico parcialmente saturado" se refiere a anillos parcialmente saturados de cinco, seis o siete miembros que contienen uno o dos enlaces dobles, sin que se produzcan tantos enlaces dobles que se forme un sistema aromático, a menos que se defina específicamente lo contrario. Los ejemplos incluyen:



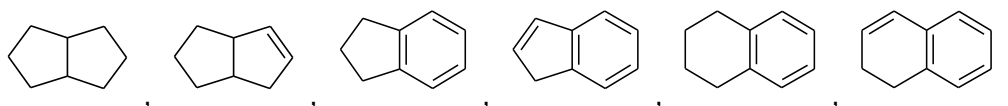
seleccionado de oxígeno, azufre y nitrógeno, a menos que no se defina específicamente lo contrario. El anillo puede estar unido a la molécula a través de un átomo de carbono del anillo o a través de un átomo de nitrógeno del anillo, si lo hubiera. Los ejemplos incluyen:



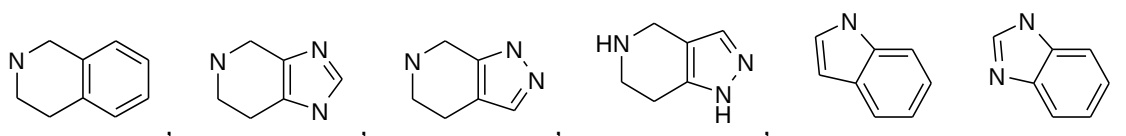
Si bien ya está incluida en el término "arilo", la expresión "arilo bicíclico" denota un anillo de arilo bicíclico de 5 a 10 miembros que contiene suficientes enlaces dobles conjugados para formar un sistema aromático. Un ejemplo de un arilo bicíclico es naftilo.

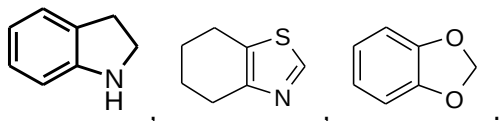
Si bien ya está incluida en "heteroarilo", la expresión "heteroarilo bicíclico" denota un anillo heteroarilo bicíclico de 5-10 miembros que puede contener uno, dos, tres o cuatro heteroátomos, seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, y contiene suficientes enlaces dobles conjugados para formar un sistema aromático, a menos que se defina específicamente lo contrario.

Si bien ya está incluida en la expresión "cicloalquilos bicíclicos" o "arilo bicíclico", la expresión "cicloalquilo fusionado" o "arilo fusionado" denota anillos bicíclicos en donde el puente que separa los anillos denota un enlace simple directo. Los siguientes son ejemplos de un cicloalquilo bicíclico fusionado:



Si bien ya está incluida en la expresión "heterociclos bicíclicos" o "heteroarilos bicíclicos", la expresión "heterociclos bicíclicos fusionados" o "heteroarilos bicíclicos fusionados" denota heteroanillos bicíclicos de 5-10 miembros que contienen uno, dos, tres o cuatro heteroátomos, seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno y en donde el puente que separa los anillos denota un enlace simple directo. Los "heteroarilos bicíclicos fusionados" además contienen suficientes enlaces dobles conjugados para formar un sistema aromático. Los ejemplos incluyen pirrolizina, indol, indolizina, isoindol, indazol, purina, quinolina, isoquinolina, bencimidazol, benzofurano, benzopirano, benzotiazol, benzotiazol, benzoisotiazol, piridopirimidina, pteridina, pirimidopirimidina,





"Halógeno" dentro del alcance de la presente invención indica flúor, cloro, bromo o yodo. A menos que se indique lo contrario, flúor, cloro y bromo se consideran halógenos preferidos.

Como se mencionó anteriormente, los compuestos de las Formulas I, II o III pueden convertirse en sales, particularmente para su uso farmacéutico en sales aceptables desde el punto de vista fisiológico y farmacológico. La expresión "aceptable desde el punto de vista farmacéutico" se emplea en la presente para referirse a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosis que son, según el criterio médico aceptable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin causar toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, y proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable. Por un lado, estas sales pueden estar presentes como sales de adición ácida aceptables desde los puntos de vista fisiológico y farmacológico de los compuestos de las Fórmulas I, II o III con ácidos inorgánicos u orgánicos. Por otro lado, el compuesto de las Fórmulas I, II o III puede convertirse por una reacción con bases inorgánicas en sales aceptables desde los puntos de vista fisiológico y farmacológico con cationes de metales alcalinos o alcalinotérreos como contraión. Las sales de adición de ácido se pueden preparar, por ejemplo, mediante el uso de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido acético, ácido fumárico, ácido succínico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico o ácido maleico. También es posible utilizar mezclas de los ácidos mencionados anteriormente. Para preparar las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de los compuestos de las Fórmulas I, II o III se prefiere utilizar los hidróxidos e hidruros de metales alcalinos y alcalinotérreos, de los cuales se prefieren particularmente los hidróxidos e hidruros de metales alcalinos, sodio, potasio, magnesio, calcio, zinc y dietanolamina, mientras que se prefieren particularmente hidróxido de sodio y potasio.

La invención se refiere a los compuestos en cuestión, opcionalmente en forma de isómeros ópticos individuales, diastereómeros, mezclas de diastereómeros, mezclas de enantiómeros individuales o racematos, en forma de tautómeros así como en forma de bases libres o las sales de adición de ácido correspondientes con ácidos aceptables desde el punto de vista farmacológico, tales como, por ejemplo, sales de

adición de ácido con ácidos hidrohálidos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, o ácidos orgánicos, como por ejemplo, ácido oxálico, fumárico, diglicólico o metanosulfónico.

Los compuestos de las Fórmulas **I**, **II** o **III** de acuerdo con la invención pueden presentarse opcionalmente como mezclas de isómeros diastereoméricos pero también pueden obtenerse como diastereoisómeros puros. Se prefieren los compuestos con la estereoquímica específica de las Fórmulas **II** y **III**, en particular los compuestos con la estereoquímica específica de la Fórmula **II**.

4 MÉTODOS DE SÍNTESIS

Procedimiento general

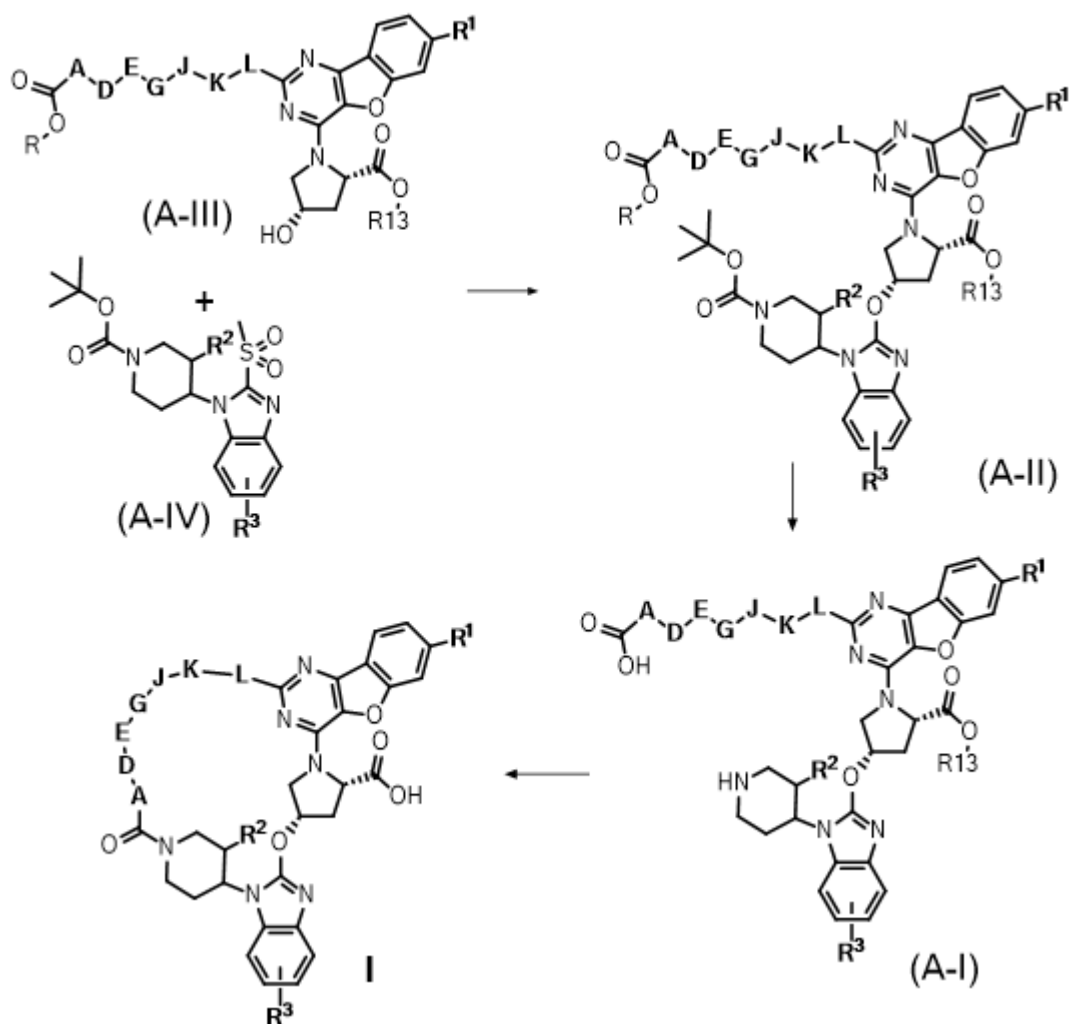
Los siguientes métodos son adecuados para preparar compuestos de la Fórmula general **I**, **II** o **III**. Los compuestos de acuerdo con la invención pueden obtenerse mediante métodos de síntesis conocidos por las personas del oficio de nivel medio y descritos en la literatura de síntesis orgánica. Por ejemplo, se describen métodos generales para las etapas de protección y desprotección de grupos funcionales en: Greene, T.W. y Wuts, P.G.M. (ed.): *Protective Groups in Organic Synthesis*, tercera edición 1999; John Wiley and Sons, Inc. Preferentemente, los compuestos se obtienen de manera análoga a los métodos de preparación explicados con mayor detalle más adelante en la presente, particularmente como se describe en la sección experimental. Los compuestos de la Fórmula general (**I**) pueden prepararse mediante el uso de varias vías de síntesis alternativas, de las cuales las siguientes vías sirven de ejemplo.

Vía A:

Los compuestos de las Fórmulas generales **I**, **II** y **III**, especialmente en los que **A** representa -CH₂- o -CH₂- sustituido, pueden obtenerse a partir de compuestos de la Fórmula (A-I) mediante procedimientos de amidación estándar. Así, R₁₃ puede representar hidrógeno o un grupo protector, como, por ejemplo, ter-butilo, que puede eliminarse mediante métodos de desprotección estándar. Los compuestos de la Fórmula (A-I) pueden prepararse a partir de compuestos de la Fórmula (A-II) mediante la aplicación de métodos de desprotección estándar. Los compuestos de la Fórmula (A-II) pueden prepararse al hacer reaccionar compuestos de la Fórmula (A-III) con compuestos de la Fórmula (A-IV) mediante la aplicación de una base fuerte, como, por ejemplo, hidruro de sodio. Los métodos aplicables para la preparación de compuestos (A-III) resultan obvios para la persona del oficio de nivel medio tras consultar las vías B y C descritas a continuación y los ejemplos descritos en la sección experimental. Los

compuestos de la Fórmula (A-IV) pueden prepararse con los métodos descritos a continuación para la síntesis de los intermediarios B. **R** de acuerdo con las Fórmulas (A-II) y (A-III) puede representar hidrógeno o un grupo protector seleccionado del grupo que consiste en ter-butilo, metilo, etilo y bencilo.

Vía A

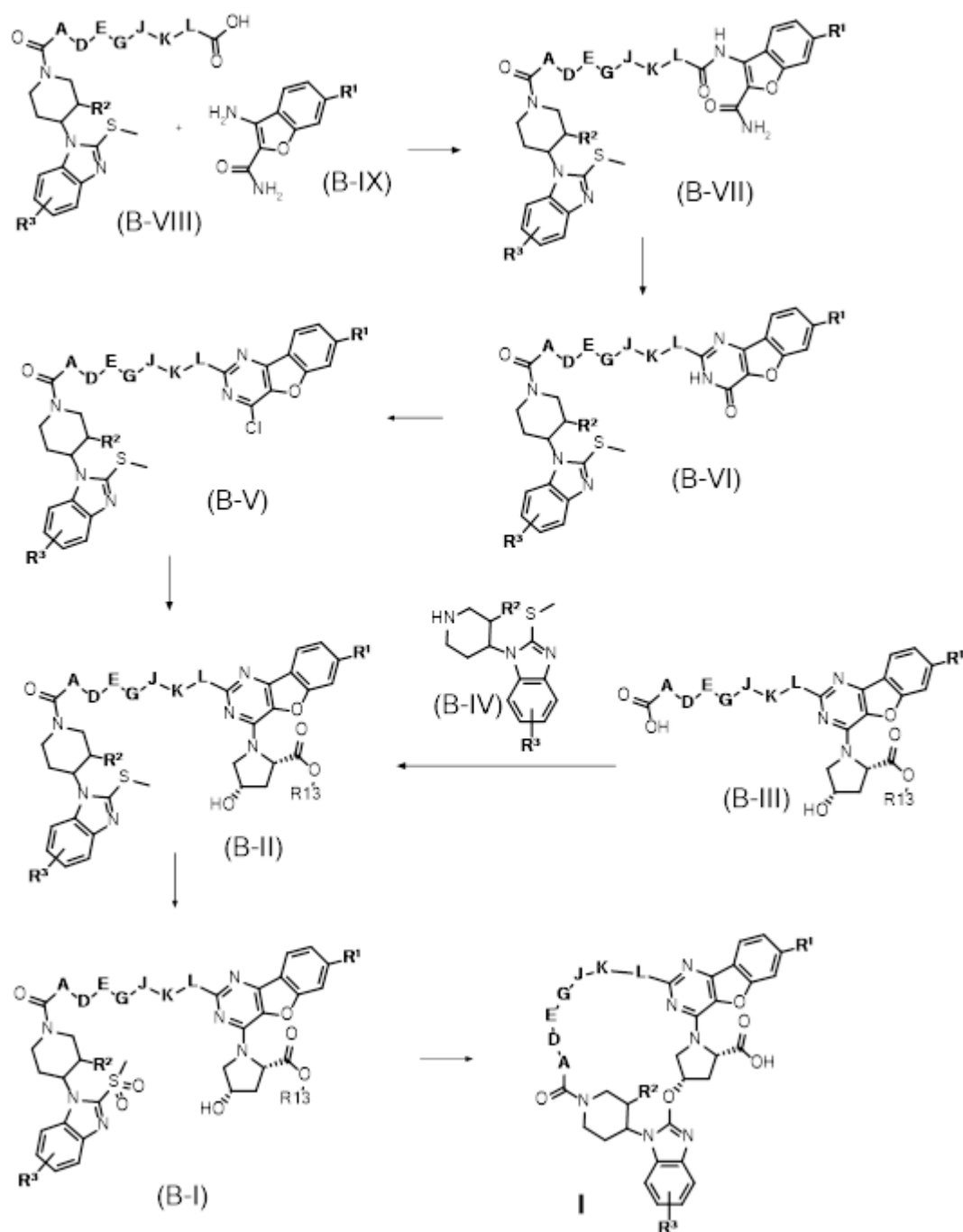


Vía B:

Los compuestos de las fórmulas generales **I**, **II** y **III** pueden prepararse al hacer reaccionar compuestos de la fórmula general (B-I) en presencia de una base fuerte como, por ejemplo, hidruro de sodio. Así, R^{13} puede representar hidrógeno o un grupo protector, como, por ejemplo, ter-butilo, que puede eliminarse mediante métodos de desprotección estándar. Los compuestos (B-I) se pueden preparar al oxidar los compuestos de la Fórmula general (B-II) mediante la aplicación de, por ejemplo, ácido 3-cloro-perbenzoico. Los compuestos (B-II) se pueden preparar al hacer reaccionar compuestos de la Fórmula general (B-III) con compuestos de la Fórmula general (B-IV) mediante la aplicación de condiciones de amidación estándar. Los métodos aplicables

para la preparación de compuestos (B-III) resultan obvios para la persona del oficio de nivel medio tras consultar la síntesis de compuestos (B-VI), la vía C descrita a continuación y los ejemplos descritos en la sección experimental. Los compuestos de la Fórmula (B-IV) se pueden preparar con los métodos descritos a continuación para la síntesis de intermediarios B. Alternativamente, los compuestos (B-II) pueden prepararse al hacer reaccionar compuestos de la Fórmula general (B-V) con la hidroxiprolina enantiopura respectiva, opcionalmente en presencia de una base. Los compuestos (B-V) se pueden obtener a través de la cloración de compuestos de la Fórmula general (B-VI) mediante la aplicación de cloruro de fosforilo. Los compuestos (B-VI) se pueden preparar a partir de compuestos de la Fórmula general (B-VII) mediante la aplicación de condiciones fuertemente alcalinas, por ejemplo, a temperatura elevada. Los compuestos (B-VII) se pueden obtener al hacer reaccionar compuestos de la Fórmula general (B-VIII) con compuestos de la Fórmula general (B-IX) mediante la aplicación de procedimientos de amidación estándar. Los compuestos de la Fórmula general (B-VIII) se pueden preparar con los métodos ejemplificados a continuación u otros métodos de síntesis estándar conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

Via B

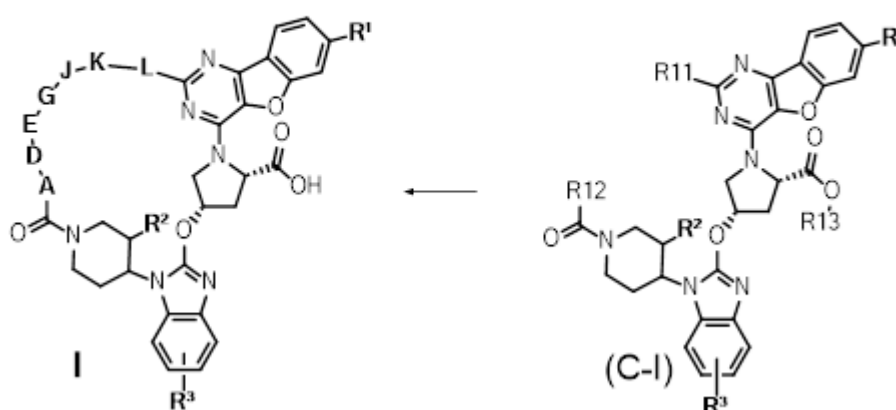


Vía C:

Los compuestos de la fórmula general se pueden preparar a partir de compuestos de la Fórmula general (C-I) mediante diversos tipos de reacción de cierre de anillo, cuyos ejemplos incluyen, entre otros, los siguientes: reacciones de acoplamiento de tipo Heck (en donde R11 representa un átomo de bromo o yodo y R12 contiene un alqueno terminal), una reacción de metátesis de cierre de anillo (en

donde tanto R11 como R12 contienen un alqueno terminal), seguida de hidrogenación del alqueno resultante, amidación (en donde R11 tiene un ácido carboxílico y R12 tiene un grupo amino primario o secundario o viceversa). Así, R13 puede representar hidrógeno o un grupo protector, como, por ejemplo, ter-butilo, que puede eliminarse mediante métodos de desprotección estándar. Los métodos para la síntesis de compuestos (C-I) resultan obvios para la persona del oficio de nivel medio tras consultar las vías A y B anteriores y los ejemplos descritos en la sección experimental.

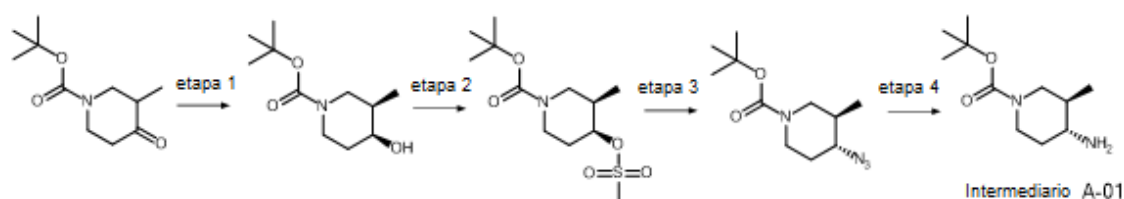
Vía C



SÍNTESIS DE INTERMEDIARIOS

INTERMEDIARIOS A

Intermediario A-01 (ter-butil trans-4-amino-3-metilpiperidin-1-carboxilato racémico):



Etapas 1:

A una solución de ter-butil 3-metil-4-oxopiperidin-1-carboxilato (175 g; 0,82 mol) en THF (1,22 l), enfriada hasta 0 °C, se agregó litio-tri-sec-butil(hidrido)borato (L-selectrida; 1M en THF; 984 ml; 0,98 mol). La mezcla se agitó durante 4 h mientras se mantenía la temperatura entre 0 °C y 10 °C. Se agregó una solución de hipoclorito de sodio ac. (10 %; 525 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (700 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó en sulfato de sodio y se evaporó. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 2 % -> 50 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 3,84 - 3,82 (m, 1H), 3,52 (d, J = 6,40 Hz, 2H), 3,29

(d, $J = 5,40$ Hz, 2H), 3,06 - 3,02 (m, 1H), 1,76 - 1,74 (m, 3H), 1,65 (s, 9H), 1,24 - 0,89 (m, 3H)

Etapla 2:

A una solución del producto de la etapa 1 (330 g; 1,53 mol) en THF (1,65 l) se agregó trietilamina (341 g; 3,37 mol). Se agregó anhídrido metansulfónico (507 g; 2,91 mol) a RT y la mezcla se agitó durante 4 h a RT. Se agregó agua (550 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (1,65 l). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,74 - 4,71 (m, 1H), 4,23 - 3,95 (m, 1H), 3,17 - 3,04 (m, 2H), 3,04 (s, 3H), 1,95 - 1,92 (m, 1H), 1,83 (s, 1H), 1,83 - 1,82 (m, 1H), 1,32 (s, 9H), 0,91 - 0,79 (m, 3H)

Etapla 3:

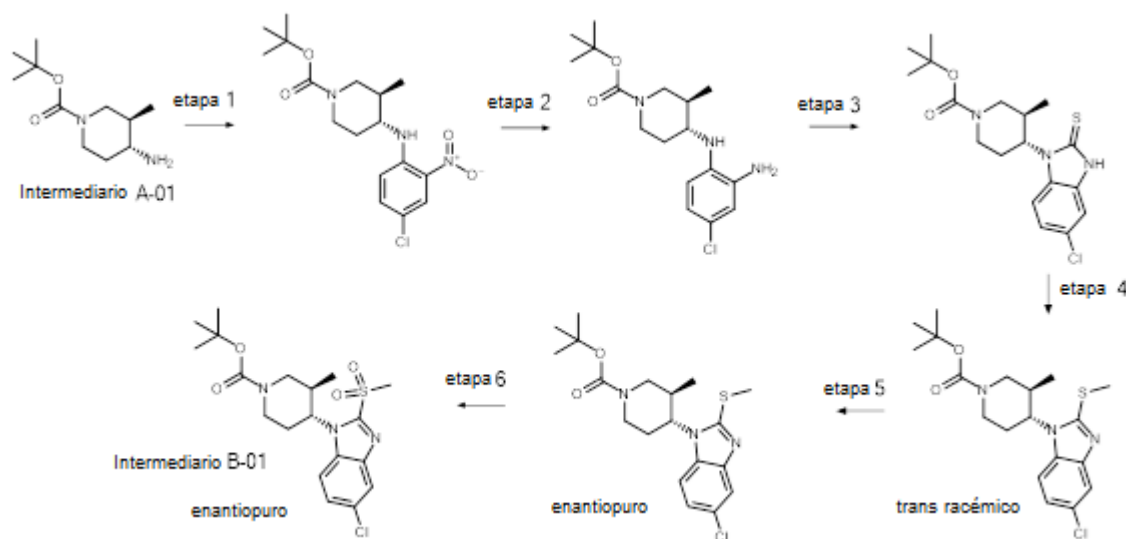
Reacción en una atmósfera de nitrógeno. A una solución del producto de la etapa 2 (420 g; 1,43 mol) en DMF (2,1 l) se agregó a RT azida de sodio (186 g; 2,86 mol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 4 h y luego se enfrió hasta 0 °C. Se agregó una solución saturada de carbonato de sodio (4,0 l) mientras se mantenía la temperatura por debajo de los 10 °C. La mezcla se extrajo con EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó en sulfato de sodio y se evaporó a presión reducida. El producto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapla 4:

Una mezcla del producto de la etapa 3 (200 g; 0,83 mol), paladio sobre carbón (60 g) y EtOAc (1,0 l) se agitó a presión de hidrógeno (50 psi) a RT durante 2 h. El catalizador se filtró con succión y se lavó con metanol (2 l). Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 0 % -> 100 %) para obtener el compuesto del título.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,85 (s, 1 H) 3,99 - 3,74 (m, 2 H), 2,81 - 2,79 (m, 2H), 2,71 (s, 1 H), 2,72 - 2,70 (m, 1 H), 2,64 - 2,52 (m, 1 H), 2,25 - 2,16 (m, 2 H), 1,66 - 1,57 (m, 1 H), 1,35 - 1,30 (m, 2 H), 1,30 - 1,27 (m, 8 H), 1,17 - 1,06 (m, 2 H), 0,83 - 0,78 (m, 3 H), 0,75 - 0,71 (m, 1 H)

INTERMEDIARIOS B

Intermediario B-01:**Etapa 1:**

Una mezcla del intermediario **A-01** (2 g; 9,97 mmol), 5-cloro-2-fluoronitrobenceno (1,21 ml; 9,97 mmol), DIPEA (3,43 ml; 19,9 mmol) y DMF (17 ml) se agitó a 60 °C hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó una conversión predominante de los materiales de inicio (10 h). La mezcla se vertió en agua helada. Se agregó agua adicional y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego con salmuera, se separaron, se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; ciclohexano/EtOAc 20 % -> 100 %) para obtener ter-butil (rac-trans)-4-[(4-cloro-2-nitrofenil)amino]-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 392 [M+Na]⁺

R_t (HPLC): 0,83 min (método A)

Etapa 2:

El producto de la etapa 1 (3,25 g; 7,90 mmol), níquel Raney (410 mg) y THF (60 ml) se agitaron en un aparato Parr a presión de hidrógeno (50 psi) durante 5 h a RT. Se agregó níquel Raney adicional (160 mg) múltiples veces después de 10-15 h adicionales en cada caso, hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó una alta conversión del material de inicio (aquí: adición de catalizador 3 veces). El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó. El producto crudo se llevó a la siguiente etapa.

ESI-MS: 340 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,63 min (método A)

Etapa 3:

Una mezcla del producto de la etapa 2 (2,16 g; 6,37 mmol), 1-(1H-imidazol-1-carbotiol)-1H-imidazol (1,47 g; 8,25 mmol) y DMF (34 ml) se agitó a RT durante 2 h. Se agregó lentamente agua helada (200 ml) a la mezcla de reacción mientras se agitaba y la agitación continuó durante 10 min adicionales. El precipitado se filtró, se lavó con agua, se secó durante la noche a 50 °C y se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

ESI-MS: 382 $[M+H]^+$

R_t (HPLC): 0,71 min (método A)

Etapa 4:

Reacción en una atmósfera de argón. A una solución del producto de la etapa 3 (2,57 g; 6,26 mmol) en DMF anhidro se agregó ter-butilato de potasio (1,42 g; 12,7 mmol). La mezcla se agitó a RT durante 15 min y luego se agregó yodometano (597 μ l; 9,49 mmol). La mezcla se agitó a RT hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó una conversión casi completa del material de inicio (2 h). Se agregó agua helada (100 ml) y la mezcla se mantuvo a 6 °C durante la noche. El precipitado formado se filtró, se absorbió en EtOAc, se concentró a presión reducida y se secó mediante coevaporación con tolueno para obtener ter-butil (trans racémico)-4-[5-cloro-2-(metilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-1-il]-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 396 $[M+H]^+$

R_t (HPLC): 0,73 min (método A)

Etapa 5:

La mezcla de enantiómeros de la etapa 4 se separó mediante SFC preparativa (instrumento: Sepiatec 2 Prep SFC 100; columna: Lux Cellulose-2 (21,2 mm * 250 mm, 5 μ m); fase móvil: A para CO₂ y B para IPA; gradiente: % de B = modo de elución isocrática al 20 %; velocidad de flujo: 60 ml/min; longitud de onda: 220 nm; temperatura de columna: 40 grados Celsius; contrapresión del sistema: 150 bar).

La configuración absoluta de los dos enantiómeros separados se asignó en función de una estructura cocrystalina del ejemplo 1.01 con la proteína cGAS humana de acuerdo con métodos descritos por D. J. Patel *et al.*, PNAS 2019, 11946-11955

(doi.org/10.1073/pnas.1905013116).

^1H NMR (del isómero que se eluyó en primer lugar) (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,46 - 7,69 (m, 1 H), 7,10 - 7,26 (m, 1 H), 7,17 (br d, $J=6,84$ Hz, 1 H), 3,87 - 4,22 (m, 3 H), 2,87 - 3,06 (m, 1 H), 2,57 - 2,79 (m, 4 H), 2,31 - 2,45 (m, 1 H), 2,13 - 2,30 (m, 1 H), 1,80 (br d, $J=11,79$ Hz, 1 H), 1,45 (s, 9 H), 0,58 (d, $J=6,46$ Hz, 3 H)

El isómero que se eluyó en primer lugar se llevó a la siguiente etapa. A partir del isómero que se eluyó en segundo lugar, se preparó el intermediario **B-02**.

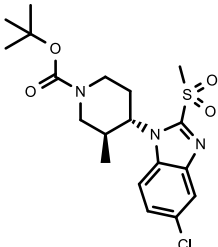
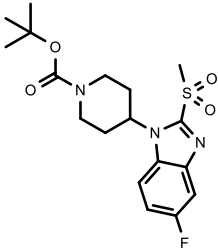
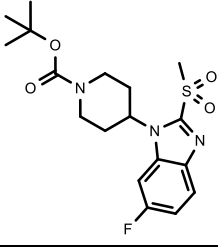
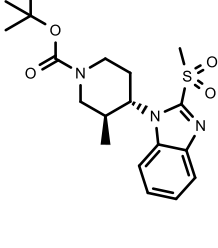
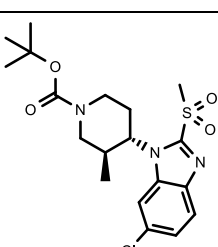
Etapa 6:

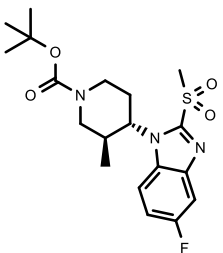
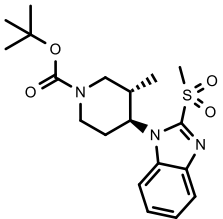
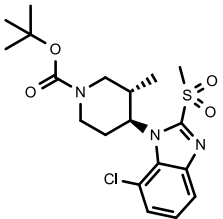
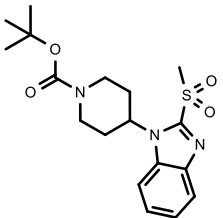
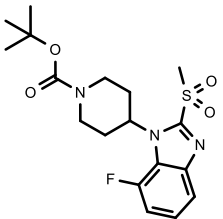
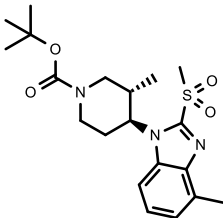
A una solución del isómero que se eluyó en primer lugar de la etapa 5 (811 mg; 2,05 mmol) en DCM (11,8 ml) se agregó ácido 3-cloroperoxibenzoico (77 %; 0,987 g; 4,40 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h y luego se diluyó con DCM adicional y se lavó con carbonato de potasio ac. (15 %). La capa acuosa se volvió a extraer con DCM y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se separaron, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 428 $[\text{M}+\text{H}]^+$

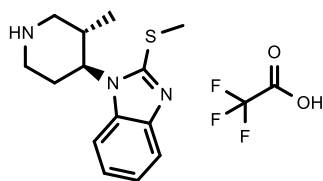
R_t (HPLC): 0,74 min (método A)

Los siguientes intermediarios se prepararon de manera análoga al Intermediario **1.01** descrito anteriormente a partir de los materiales de inicio indicados. Así, la temperatura de reacción en la etapa 1 se ajustó a la reactividad del material de inicio de nitrobenzo respectivo. La configuración absoluta de los intermediarios seleccionados se asignó a partir de una estructura cocrystalina de un compuesto de ejemplo preparado a partir del intermediario respectivo con la proteína cGAS humana de acuerdo con métodos descritos por D. J. Patel et al., PNAS 2019, 11946-11955 (doi.org/10.1073/pnas.1905013116). La configuración absoluta de otros intermediarios y ejemplos se asignó en función de la presunción de que los eutómeros comparten la misma estereoquímica absoluta en todos los casos.

Int.	Materiales de inicio	Estructura	ESI-MS	R _t (HPLC) (método)	Comentario de quiralidad
B-02	A-01 y 5-cloro-2-fluoro-nitrobenceno		428 [M+H] ⁺	0,74 min (A)	El isómero que se eluyó en segundo lugar en la etapa 5 se llevó a la etapa 6.
			SFC quiral: Condiciones descritas en la etapa 5		
B-03	4-amino-1-BOC-piperidina y 2,5-difluoro-nitrobenceno		398 [M+H] ⁺	0,66 min (A)	aquiral
			aquiral		
B-04	4-amino-1-BOC-piperidina y 2,4-difluoro-nitrobenceno		398 [M+H] ⁺	0,66 min (A)	aquiral
			aquiral		
B-05	A-01 y 2-fluoro-nitrobenceno		394 [M+H] ⁺	0,65 min (A)	El isómero que se eluyó en primer lugar en la etapa 5 se llevó a la etapa 6.
			SFC quiral: EtOH (NH ₃ 20 mM)/CO ₂ = 10/90; columna: CHIRAL ART Cellulose-SZ 20 x 250 mm, 5 µm; CT: 40 °C; BPR: 150 bar, flujo: 60 ml/min		
B-06	A-01 y 4-cloro-2-fluoro-nitrobenceno		428 [M+H] ⁺	0,74 min (A)	El isómero que se eluyó en primer lugar en la etapa 5 se llevó a la etapa 6.
			SFC quiral: IPA/CO ₂ = 10/90; columna: CHIRAL ART Cellulose-SZ 20 x 250 mm, 5 µm; CT: 40 °C; BPR: 150 bar, flujo: 60 ml/min		

B-07	A-01 y 2,5-difluoro-nitrobenzono		412 [M+H] ⁺	0,69 min (A)	Los isómeros se separaron después de la etapa 6 final. El isómero que se eluyó en primer lugar es B-07 .
			HPLC quiral: EtOH/heptano = 35/65; columna: DAICEL Chiralpak IG 50 x 250 mm, 10 µm		
B-08	A-01 y 2-fluoro-nitrobenzono		394 [M+H] ⁺	0,65 min (A)	Sin separación quiral de los enantiómeros. El racemato se llevó a la etapa 6.
			racemato, trans		
B-09	A-01 y 3-cloro-2-fluoro-nitrobenzono		428 [M+H] ⁺	1,09 min (D)	Sin separación quiral de los enantiómeros. El racemato se llevó a la etapa 6.
			racemato, trans		
B-10	4-amino-1-BOC-piperidina y 2-fluoro-nitrobenzono		380 [M+H] ⁺	0,62 min (A)	aquiral
			aquiral		
B-11	4-amino-1-BOC-piperidina y 2,3-difluoro-nitrobenzono		398 [M+H] ⁺	0,65 min (A)	aquiral
			aquiral		
B-13	A-01 y 2-fluoro-6-metil-nitrobenzono		408 [M+H] ⁺	0,72 min (A)	Sin separación quiral de los enantiómeros. El racemato se llevó a la etapa 6.
			racemato, trans		

Intermediario B-12

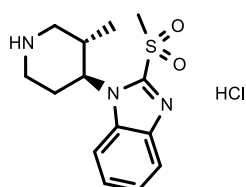


(trans racémico)

El producto de la etapa 4 de la síntesis del intermediario **B-08** se desprotegió con BOC de acuerdo con el procedimiento general D.

ESI-MS: 262 [M+H]⁺R_t (HPLC): 0,47 min (método E)

Intermediario B-14



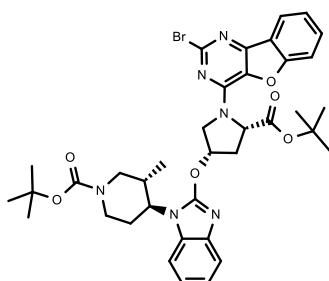
(trans racémico)

Una mezcla del intermediario **B-08** (700 mg; 1,78 mmol) y ácido clorhídrico en dioxano (4 M; 1,33 ml; 5,45 mmol) se agitó durante 2 h. Se agregó ter-butil metiléter (20 ml) y se dejó que la mezcla repose sin agitación durante 1 h. El precipitado se filtró y se absorbió en metanol. La solución resultante se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 294 [M+H]⁺R_t (HPLC): 0,60 min (método E)

INTERMEDIARIOS I

Intermediario I.01:



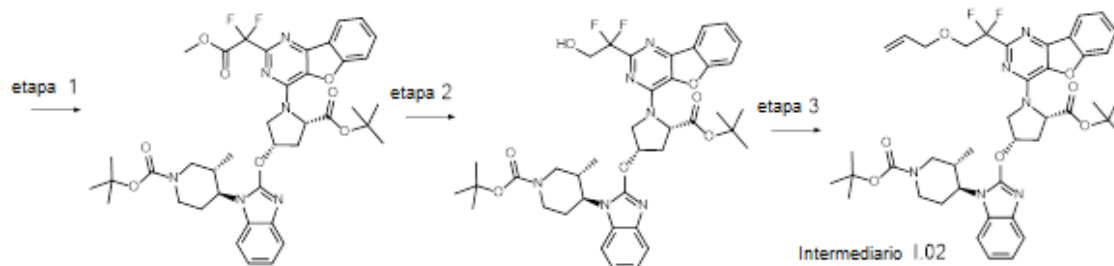
El intermediario **N-R** se hizo reaccionar con el intermediario **B-5** de acuerdo con el procedimiento general A para obtener el compuesto del título ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-1-{4-bromo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il}-5-[(ter-butoxi)carbonil]pirrolidin-3-il]oxi]-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-me

tilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 747 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,27 min (método B)

Intermediario I.02:



Etapa 1:

Reacción realizada en una atmósfera de argón, desgasificada con solvente y secada mediante la adición de tamices moleculares. Al intermediario **I.01** (721 mg; 0,916 mmol) en un matraz de fondo redondo se agregaron DMSO (10 ml), bromodifluoroacetato de metilo (266 µl; 2,42 mmol) y cobre en polvo (291 mg; 4,58 mmol). La mezcla se agitó durante la noche, y luego se agregaron 1 eq. adicional de bromodifluoroacetato de metilo y dos eq. adicionales de cobre. Después de 72 h más de agitación, la mezcla se diluyó con EtOAc, se agregó una solución de dihidrogenofosfato de potasio (1,27 M; 20 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min más antes de filtrar. La capa orgánica del filtrado se lavó con agua, se concentró y el producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; CH/EtOAc 10 % -> 100 %) para obtener

ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-[4-(1,1-difluoro-2-metoxi-2-oxoetil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi]-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

Etapa 2:

Al producto de la etapa 1 (585 mg; 0,647 mmol) en etanol absoluto (secado en tamices moleculares de 3 Å) se agregó en porciones borohidruro de sodio (244 mg; 6,40 mmol) dentro de 1 h. La reacción se inactivó mediante la adición de agua, la mezcla se extrajo tres veces con EtOAc, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego salmuera, se separaron y se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; CH/EtOAc 20 % -> 100 %) para obtener ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-[4-(1,1-difluoro-2-

hidroxietil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi}-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

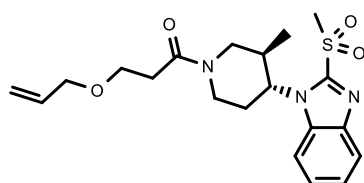
Etapas 3:

A una solución del producto de la etapa 2 (269 mg; 0,359 mmol) y bromuro de alilo (220 μ l; 2,52 mmol) en DMA (1,67 ml) se agregó hidruro de sodio (55 % en aceite mineral; 47 mg; 1,08 mmol). La mezcla se agitó durante 10 min y luego se inactivó mediante la adición de agua. La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego salmuera, se separaron y se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; CH/EtOAc 20 % $\rightarrow$ 100 %) para obtener el compuesto del título ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-{4-[1,1-difluoro-2-(prop-2-en-1-ilo)etil]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi}-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 789 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,29 min (método B)

Intermediario I.03:



(mezcla racémica de isómeros trans)

A una solución de ácido 3-aliloxipropiónico (38 μ l; 0,303 mmol) en DMF (500 μ l) se agregó clorhidrato de EDC (70 mg; 0,364 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (105 μ l; 0,606 mmol). La mezcla se agitó durante 10 min, luego se agregó el intermediario **B-14** (100 mg; 0,303 mmol) y la mezcla se agitó durante 90 min, luego se diluyó con metanol (2 ml) y se sometió a purificación mediante RP HPLC (Sunfire C18; ACN/agua, modificador: TFA).

ESI-MS: 406 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,88 min (método E)

INTERMEDIARIOS N

Las síntesis descritas a continuación se llevaron a cabo en parte de acuerdo con los procedimientos generales indicados a continuación.

Procedimiento general Int-A: Hidrogenación con catalizador Pd/C (ver: Intermediario N-A, etapa 4)

Procedimiento general Int-B: Cierre de anillo en condiciones básicas (ver: Intermediario N-A, etapa 5)

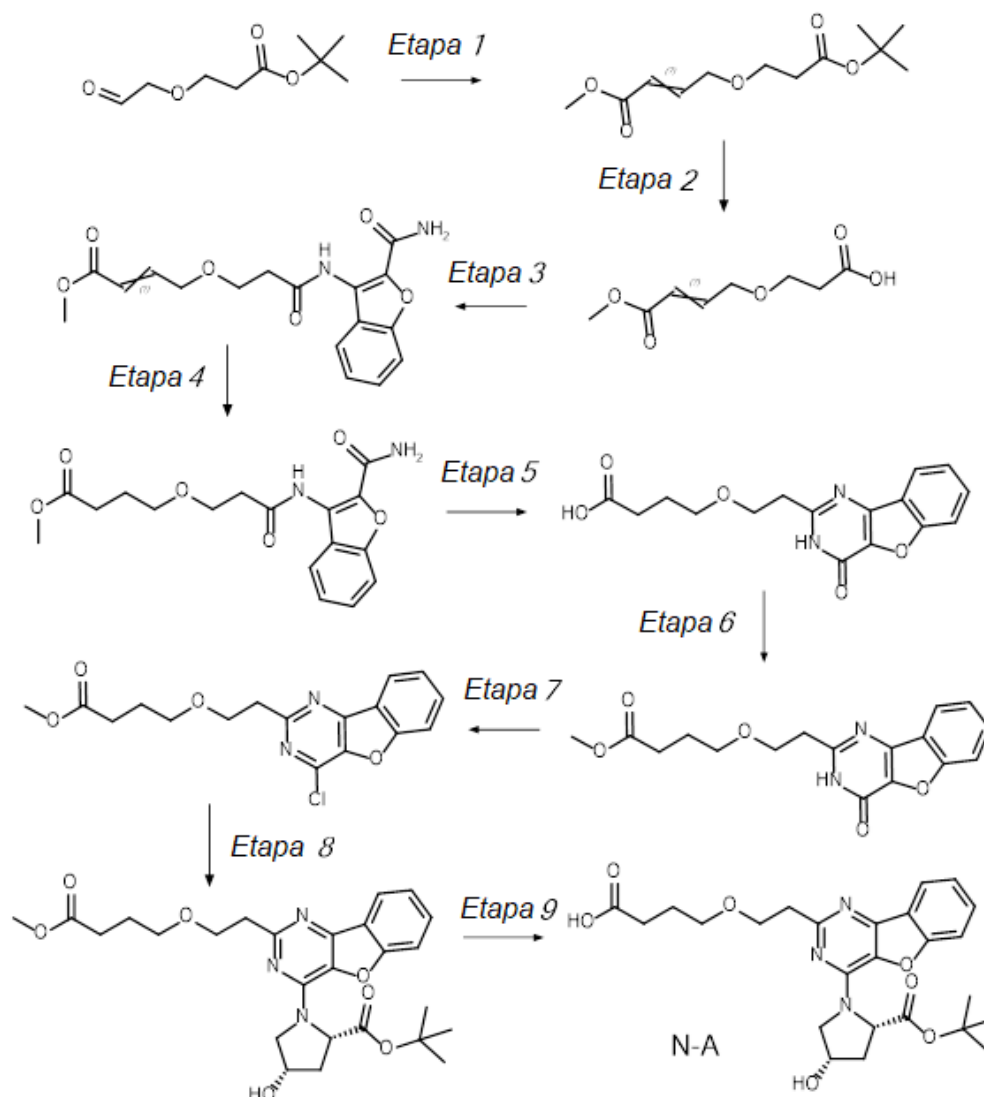
Procedimiento general Int-C: Cloración mediante la aplicación de tricloruro de fosforoílo (ver: Intermediario N-A, etapa 7)

Procedimiento general Int-D: S_NAr con éster de hidroxiprolina (ver: Intermediario N-A, etapa 8)

Procedimiento general Int-E: escisión de ésteres mediante la aplicación de hidróxido de litio (ver: Intermediario N-F, etapa 2)

Procedimiento general Int-F: amidación mediante PFTU (ver: Intermediario N-F, etapa 3)

Procedimiento general Int-G: acoplamiento de Heck (ver: Intermediario N-J, etapa 1)
Intermediario N-A:



Etapa 1:

Una mezcla de ter-butil 3-(2-oxoetoxi)propanoato (7,25 g; 38,5 mmol), que se preparó como se describe en EP2409977, y metil (trifenilfosforaniliden)acetato (13,1 g; 38,5 mmol) en DCM (200 ml) se agitó a RT durante la noche. La mezcla se evaporó a presión reducida y se absorbió en CH/EtOAc (3:1). Los insolubles se eliminaron mediante filtración, y el filtrado se evaporó. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; CH/EtOAc 10 % -> 45 %) para obtener el producto como una mezcla de isómeros *cis* y *trans*.

Etapa 2:

El producto de la etapa 1 (1,50 g; 6,14 mmol) se agitó en una mezcla de DCM (15 ml) y TFA (10 ml) durante la noche. La mezcla se evaporó y se absorbió en metanol (10 ml). Se agregó tetraalquilamoniocarbonato unido a polímero (2

equivalentes en peso), y la mezcla se agitó durante 90 min. Los insolubles se filtraron, y el filtrado se evaporó.

Etapa 3:

A una solución del producto de la etapa 2 (5,00 g, 21,3 mmol) en ACN (140 ml), se le agregó 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (4,45 ml; 33,6 mmol). La mezcla se agitó a RT durante 10 min, y luego se agregaron piridina (5,10 ml; 63,0 mmol) y 3-aminobenzofuran-2-carboxamida (3,70 g; 21,0 mmol). La mezcla se agitó a RT durante la noche a RT, luego se agregó agua. La mezcla se extrajo con DCM, y la capa orgánica se separó y se evaporó. El producto crudo primero se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 40 % -> 80 %) y posteriormente mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA).

ESI-MS: 347 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 min (método E)

Etapa 4: **Procedimiento general Int-A:**

Una mezcla del producto de la etapa 3 (3,40 g; 9,73 mmol), paladio sobre carbón (10 %; 350 mg) y etanol (500 ml) se agitó bajo presión de hidrógeno (50 psi) hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó la conversión del material de inicio (en la presente: 90 min). El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó hasta secarse.

ESI-MS: 349 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,81 min (método E)

Etapa 5:

Procedimiento general Int-B:

Una mezcla del producto de la etapa 4 (4,55 g; 13,1 mmol) e hidróxido de sodio ac. (4 M; 100 ml; 400 mmol) se agitó a 60 °C hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó la conversión del material de inicio (aquí: 60 min). La mezcla se dejó enfriar hasta RT y luego se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico ac. (4 M). El precipitado se recolectó y se secó a 60 °C.

ESI-MS: 317 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,73 min (método E)

Etapa 6:

A una mezcla del producto de la etapa 5 (3,53 g, 11,2 mmol), DCM (60 ml) y unas pocas gotas de DMF se agregó cloruro de oxalilo (1,24 ml; 14,5 mmol) a RT. La mezcla se agitó durante 3 h a RT, luego se agregó metanol y se siguió agitando durante otros 60 min. La mezcla se extrajo con agua, y la capa orgánica se separó y se evaporó hasta secarse.

ESI-MS: 331 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,82 min (método E)

Etapa 7:

Procedimiento general Int-C:

Se agitó una mezcla del producto de la etapa 6 (3,70 g; 11,2 mmol) y tricloruro de fosforoilo (70 ml) a 90 °C durante 4 h. Se eliminó el excedente de tricloruro de fosforoilo mediante destilación, y se agregó agua cuidadosamente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc, y la capa orgánica se separó y se evaporó. El producto crudo se llevó a la siguiente etapa.

ESI-MS: 349 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,02 min (método E)

Etapa 8:

Procedimiento general Int-D:

Una mezcla del producto de la etapa 7 (300 g; 0,896 mmol), clohidrato de ter-butil (2S,4S)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (253 mg; 1,08 mmol), carbonato de potasio (300 mg; 2,06 mmol) y DMF (7,0 ml) se agitó a RT durante la noche. Se agregó agua y la mezcla se dejó acidificar mediante la adición de ácido clorhídrico ac. (1 M). La mezcla se extrajo con EtOAc, la capa orgánica se evaporó y el producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 40 % -> 75 %).

ESI-MS: 500 [M+H]⁺

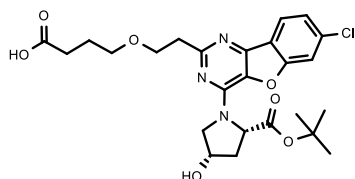
R_t (HPLC): 0,75 min (método E)

Etapa 9:

El producto de la etapa 8 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-E** para obtener el compuesto del título con el éster escindido.

ESI-MS: 486 [M+H]⁺

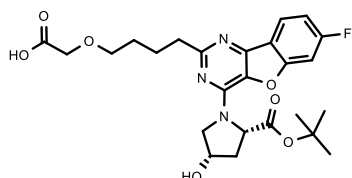
R_t (HPLC): 0,70 min (método E)

Intermediario N-B:

Se preparó de manera análoga a la secuencia descrita para la síntesis del Intermediario **N-A**, con la aplicación de 3-amino-6-cloro-1-benzofuran-2-carboxamida en la etapa 3.

ESI-MS: 520 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,50 min (método A)

Intermediario N-C:

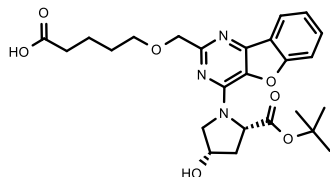
La preparación se realizó a partir del Intermediario **N-V** y ácido 2-(but-3-en-1-ilo)acético con la aplicación de una secuencia de dos etapas:

Etapa 1: de acuerdo con el procedimiento general **Int-G**.

Etapa 2: de acuerdo con el procedimiento general **Int-A** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 504 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,45 min (método A)

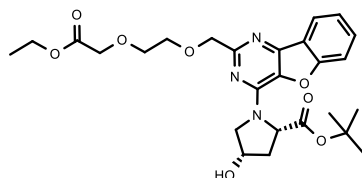
Intermediario N-D:

Se preparó de manera análoga a la secuencia descrita para la síntesis del Intermediario **N-A**, primero a partir de ter-butil 2-(3-oxopropoxi)acetato que se preparó como se describe en EP1939201.

ESI-MS: 486 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,71 min (método E)

Intermediario N-E:



Etapas 1:

Una mezcla de 3-aminobenzofuran-2-carboxamida (2,00 g; 11,4 mmol), etil 2-[2-(2-etoxi-2-oxoetoxi)etoxi]acetato (5,32 g; 22,7 mmol) y 1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H-[1,3]diazino[1,2-a]pirimidina (6,45 g; 45,4 mmol) se calentó hasta 120 °C durante 150 min. Después de enfriar hasta RT, se agregó ácido clorhídrico ac. (1 M; 70 ml). El precipitado se filtró con succión, se lavó con agua y se secó al vacío a 60 °C para obtener una mezcla de etil 2-[2-({6-oxo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,10,12-pentaen-4-il}metoxi)etoxi]acetato y el respectivo ácido libre, que se llevó a la siguiente etapa.

Etapas 2:

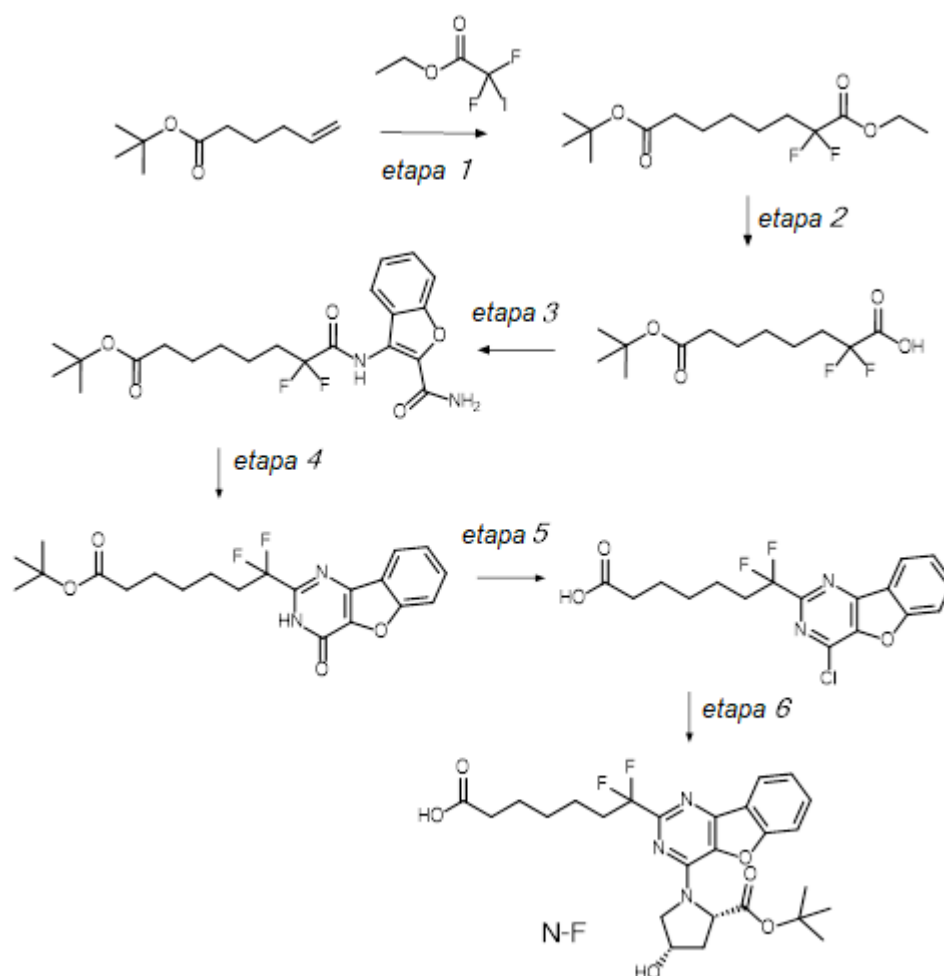
Para la reesterificación del ácido, la mezcla de la etapa 1 (2,8 g) se disolvió en DCM (200 ml). Se agregaron 2 gotas de DMF, seguidas de la adición de cloruro de oxalilo (392 µl, 4,57 mmol). La mezcla se agitó durante la noche, luego se agregó etanol (10 ml), y la mezcla se agitó durante 2 h más. La mezcla se concentró a presión reducida. Se agregó metil ter-butil éter, y el precipitado formado se lavó con metil ter-butil éter y se secó a 50 °C para obtener etil 2-[2-({6-oxo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,10,12-pentaen-4-il}metoxi)etoxi]acetato.

El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar adicionalmente en una secuencia de 2 etapas de acuerdo con el primer procedimiento general **Int-C** y luego **Int-D** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 516 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 min (método E)

Intermediario N-F:



Etapa 1:

El polvo de zinc usado se lavó con 2 % de ácido clorhídrico ac., agua y acetona antes de su uso. El polvo purificado se secó a alto vacío y se almacenó en argón. Un matraz se cargó con polvo de zinc (2,44 g; 36,9 mmol), hexahidrato de cloruro de níquel(II) (0,754 g; 3,14 mmol), THF (35,0 ml) y 3 gotas de agua, y la mezcla se agitó durante 10 min a RT. Luego se agregó ter-butil hex-5-enoato (4,63 g; 18,5 mmol) preparado como se describe en WO2010/15447) en una porción, y se agregó etil yodofluoroacetato (2,80 ml; 18,5 mmol) por goteo (reacción exotérmica durante la adición) mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 30 °C. Tras completar la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a 60 °C. La mezcla de reacción se vertió en la mezcla de solución de cloruro de amonio sat. (100 ml) y dietiléter (100 ml) y se agitó durante 10 min. Luego la mezcla se filtró mediante una almohadilla de Celite y, después de la separación, la fase acuosa se extrajo con dietiléter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice;

CH/DCM 10 % -> 100 %).

ESI-MS: 312 $[M+NH_4]^+$

R_t (HPLC): 0,78 min (método A)

Etapa 2:

Procedimiento general Int-E:

Se agregó hidróxido de litio (276 mg; 11,0 mmol) a una solución del producto de la etapa 1 en 2:1 THF/H₂O, y la mezcla de reacción se agitó a RT hasta que el control de la reacción mediante RP HPLC indicó el consumo del material de inicio (en la presente: 2,5 h). Los volátiles se eliminaron al vacío, el residuo se acidificó hasta pH= 1 mediante la adición de 5,50 ml de ácido clorhídrico ac. 1N, y la mezcla se extrajo con EtOAc tres veces. La fase orgánica combinada se secó con sulfato de sodio, se filtró y se evaporó.

ESI-MS: 211 $[M\text{-isobuteno}+H]^+$

R_t (HPLC): 0,59 min (método A)

Etapa 3:

Procedimiento general Int-F:

A RT, se agregó PFTU (2,40 g; 5,60 mmol) a una solución agitada del producto de la etapa 2 (1,40 g; 5,09 mmol) y DIPEA (970 μ l; 5,60 mmol) en DMF (21,0 ml), y la mezcla se agitó durante 30 min. Luego se agregaron 3-aminobenzofuran-2-carboxamida (1,01 g; 5,60 mmol) y además DIPEA (970 μ l; 5,60 mmol), y la mezcla se agitó durante 10 min a RT. Luego, la mezcla de reacción se calentó hasta 50 °C y se agitó durante 16 h a esta temperatura. Cuando el control de la reacción mediante RP HPLC indicó el consumo incompleto de los materiales de inicio, se agregaron DIPEA (441 μ l; 2,80 mmol) y PFTU (0,86 g; 2,04 mmol) adicionales y se continuó agitando a 50 °C durante 2,5 h más. La mezcla de reacción se diluyó con agua, se acidificó con TFA, se filtró y se purificó mediante RP HPLC (XBridge C18; ACN/agua; modificador: TFA).

ESI-MS: 425 $[M+H]^+$

R_t (HPLC): 0,72 min (método A)

Etapa 4:

A RT, se agregó clorotrimetilsilano (4,05 ml; 30,3 mmol) lentamente a una solución del producto de la etapa 3 (950 mg; 2,13 mmol) y TEA (13,0 ml; 92,4 mmol) en

1,2-dicloroetano (28,5 ml). Tras completar la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta 85 °C y se agitó durante 24 h a esta temperatura. La mezcla de reacción se vertió en 30 ml de ácido clorhídrico 4 M (pH = 1) y se extrajo con DCM dos veces. La fase orgánica combinada se secó con agua, se secó con sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para obtener ter-butil 7,7-difluoro-7-{6-oxo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),3,9,11-pentaen-4-il}heptanoato.

ESI-MS: 405 [M-H]⁻

R_t (HPLC): 0,44 min (método F)

Etapas 5:

El producto de la etapa 4 se convirtió al producto clorado mediante la aplicación del procedimiento general Int-C, seguido de purificación mediante RP-HPLC (XBridge C18; ACN/agua; modificador: TFA)

ESI-MS: 367 [M-H]⁻

R_t (HPLC): 0,64 min (método A)

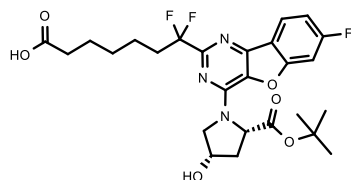
Etapas 6:

El producto de la etapa 6 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-D** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 520 [M+H]⁺

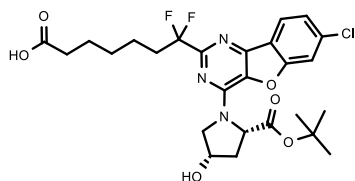
R_t (HPLC): 0,61 min (método A)

Intermediario N-G:



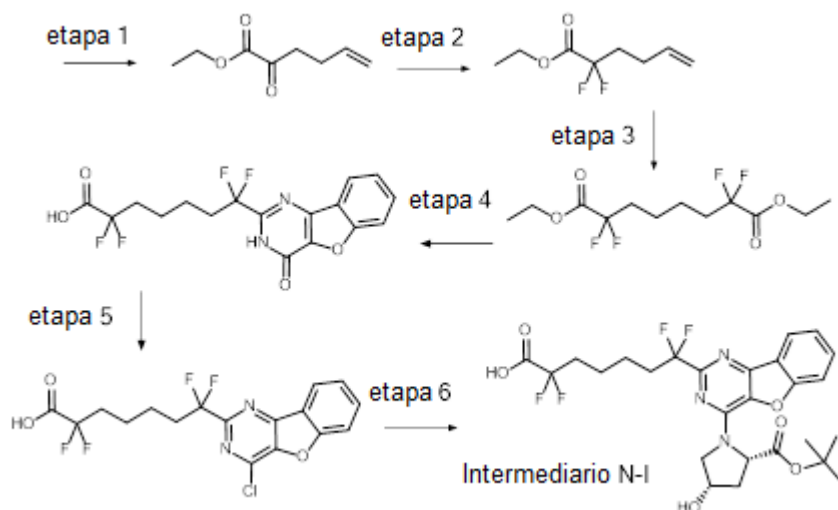
La preparación fue análoga a la secuencia de reacción descrita para la síntesis del Intermediario **N-F**, con la aplicación de 3-amino-6-fluorobenzofuran-2-carboxamida en la etapa 3.

Intermediario N-H:



La preparación fue análoga a la secuencia de reacción descrita para la síntesis del Intermediario **N-F**, con la aplicación de 3-amino-6-clorobenzofuran-2-carboxamida en la etapa 3.

Intermediario N-I:



Etapla 1:

A una solución de polvo de magnesio (45,0 g; 1,85 mol) en THF (285 ml) se agregó yodo (1,00 g; 3,94 mmol), seguido de la adición por goteo de una solución de 1-bromo-3-buteno (111 g; 821 mmol) en THF (850 ml). Así, la temperatura se mantuvo por debajo de 50 °C. La mezcla resultante se enfrió hasta -75 °C, y se agregó una solución de dietiloxalato (100 g; 684 mmol; 93,5 ml) en THF (1,89 l) por goteo a -75 °C. La mezcla se agitó a -75 °C durante 4 h más. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de una solución de cloruro de amonio ac. saturada (900 ml) a 0 °C, luego el pH se ajustó hasta pH3 mediante la adición de ácido clorhídrico ac. (1 M). La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc (500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (900 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un residuo que se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/acetato de etilo 0 % -> 100 %).

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ = 5,85 - 5,72 (m, 1H), 5,11 - 4,92 (m, 2H), 4,37 - 4,24 (m, 2H), 2,92 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,36 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,24 - 1,21 (m, 3H)

Etapa 2:

A una solución del producto de la etapa 1 (50,0 g, 320 mmol) en DCM (1000 ml) se agregó trifluoruro de bis-(2-metoxietil)aminoazufre (Deoxofluor) (120 g, 544 mmol, 119 ml) y etanol (2,95 g, 64,0 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de 500 ml de bicarbonato de sodio ac. saturado y luego se extrajo tres veces con DCM (500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con ácido clorhídrico ac. (1 M; 200 ml) y salmuera (200 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un residuo. El producto crudo se destiló al vacío (30 °C, -0,09 MPa/bomba de aceite).

^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3): δ = 5,80 (br dd, J = 10,3, 16,9 Hz, 1H), 5,13 - 5,00 (m, 2H), 4,39 - 4,28 (m, 2H), 2,30 - 2,12 (m, 4H), 1,43 - 1,34 (m, 3H)

Etapa 3:

A una mezcla de polvo de zinc (8,79 g, 134 mmol) y THF (30,0 ml) se agregó hexahidrato de cloruro de níquel(II) (804 mg, 3,38 mmol). La mezcla se agitó a -65 °C durante 5 min. Luego se agregó etil difluoriodoacetato (12,0 g, 48,0 mmol) por goteo, y el producto de la etapa 2 (6,00 g, 33,7 mmol) a -65 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de cloruro de amonio ac. saturado (60,0 ml) a 0 °C, y luego se extrajo tres veces con DCM (60,0 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60,0 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida.

^1H NMR: (400 MHz, cloroformo-d): δ = 4,33 (q, J = 7,2 Hz, 4H), 2,18 - 1,98 (m, 4H), 1,56 (td, J = 3,8, 8,0 Hz, 4H), 1,36 (t, J = 7,2 Hz, 6H)

Etapa 4:

A una solución del producto de la etapa 3 (11,0 g; 36,4 mmol) en dioxano (30,0 ml), se le agregó 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (14,2 g, 102 mmol) y 3-amino-1-benzofuran-2-carboxamida (4,50 g, 25,5 mmol). La mezcla se agitó a 110 °C durante 2 h, luego se diluyó con agua (30,0 ml) y se extrajo tres veces con EtOAc (30,0 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30,0 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante RP HPLC (ACN/agua, modificador: TFA).

^1H NMR: (400 MHz, DMSO-d): δ = 8,09 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H),

7,72 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,53 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,40 - 2,37 (m, 2H), 2,12 – 2,07 (m, 2H), 1,54 - 1,48 (m, 4H).

Etapa 5:

El producto de la etapa 4 se trató con cloro mediante la aplicación del procedimiento general **Int-C**.

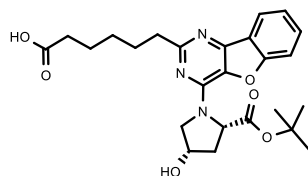
Etapa 6:

El producto de la etapa 5 se hizo reaccionar mediante la aplicación del procedimiento general **Int-D** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 556 $[M+H]^+$

R_t (HPLC): 0,64 min (método A)

Intermediario N-J:



La preparación se realizó a partir del Intermediario **N-R** mediante la aplicación de la siguiente secuencia de 3 etapas:

Etapa 1:

Procedimiento general Int-G:

Se disolvieron el Intermediario **N-R** (300 mg; 0,69 mmol) y metil éster de ácido 5-hexenoico (298 μ l; 2,07 mmol) en DMF (10 ml; 123 mmol). Se agregó trietilamina (0,39 ml; 2,76 mmol) y la mezcla se desgasificó con argón. Se agregaron paladio(II)-acetato (31 mg; 0,14 mmol) y tri-*o*-tolilfosfina (84 mg; 0,28 mmol) en argón. El vial sellado se agitó a 95 °C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con ACN/agua, se acidificó con TFA, y se filtró con un filtro de jeringa. La purificación mediante RP HPLC preparativa (Sunfire C18, ACN/agua; modificador: TFA) produjo ter-butil

(2S,4S)-4-hidroxi-1-{4-[6-metoxi-6-oxohex-1-en-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]tri deca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il}pirrolidin-2-carboxilato.

Etapa 2:

El producto de la etapa 1 se hidrogenó de acuerdo con el procedimiento general **Int-A** para obtener ter-butil (2S,4S)-4-hidroxi-1-[4-(6-metoxi-6-oxohexil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-2-carboxilato.

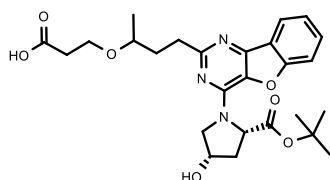
ESI-MS: 484 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,65 min (método B)

Etapa 3:

El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-E** para obtener el compuesto del título con éster escindido.

Intermediario N-K:



La preparación se realizó a partir del Intermediario **N-R** y metil 3-(but-3-en-2-iloxi)propanoato mediante la aplicación de la siguiente secuencia de tres etapas (el material de inicio de metil 3-(but-3-en-2-iloxi)propanoato se preparó a partir del respectivo ter-butil éster mediante escisión del éster ácido, seguido de la formación de metil éster (metanol, cloruro de tionilo):

Etapa 1: acoplamiento de tipo Heck de acuerdo con el procedimiento general **Int-G**.

Etapa 2: hidrogenación de acuerdo con el procedimiento general **Int-A**.

Etapa 3: escisión de éster de acuerdo con el procedimiento general **Int-E** para obtener el compuesto del título.

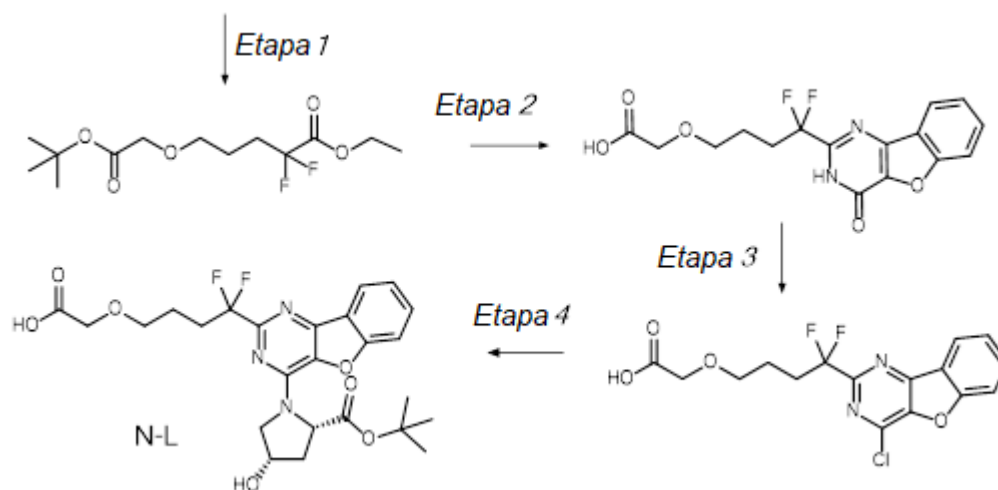
ESI-MS: 500 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,82 min (método G)

Intermediario N-L:

Ácido

2-(4-{6-[(2S,4S)-2-[(ter-butoxi)carbonil]-4-hidroxipirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-4-il}-4,4-difluorobutoxi)acético



Etapa 1:

Un recipiente de reacción en seco se equipó con una barra de agitación magnética y se cargó con ter-butil 2-aliloxiacetato (1,00 g; 5,81 mmol), cloruro de níquel(II)anhidro (0,038 g; 0,290 mmol) y carbonato de sodio (0,61 g; 5,81 mmol). Luego el recipiente de reacción se evacuó brevemente y se rellenó con argón (esta secuencia se repitió un total de tres veces). DMF anhidro (40 ml), etil bromodifluoroacetato (1,5 ml, 11,6 mmol) y fenilsilano (2,9 ml; 23,2 mmol) se agregaron secuencialmente al recipiente de reacción con una jeringa. El recipiente se calentó a 70 °C en un baño de aceite y se agitó hasta que el monitoreo de TLC indicó el consumo del material de inicio (aquí: durante la noche). La mezcla de reacción se diluyó con 30 ml de EtOAc, y la capa orgánica se lavó con 80 ml de solución de cloruro de sodio acuoso saturado. Después de esto, la capa orgánica se secó en sulfato y se concentró a presión reducida, y se purificó adicionalmente mediante FC (gel de sílice; hexano/EtOAc) para obtener etil 5-(2-ter-butoxi-2-oxo-etoxi)-2,2-difluoro-pentanoato.

Etapa 2:

A RT, se agregó 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (0,79 g; 5,68 mmol) a una solución de 3-aminobenzofuran-2-carboxamida (0,25 g; 1,42 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml). Luego se agregó el producto de la etapa 1 (0,84 g; 2,84 mmol), se aumentó la temperatura hasta 120 °C, y se continuó agitando hasta que la TLC indicó que la conversión estaba casi completa (en la presente: 18 h). La mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml) y se extrajo con DCM (3 x 7 ml). El pH de la capa ac. resultante se ajustó a entre 4 y 5, y el sólido precipitado se filtró.

ESI-MS: 353 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,61 min (método H)

Etapla 3:

El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-C**.

ESI-MS: 371 [M+H]⁺

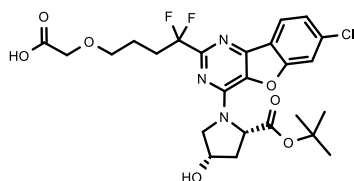
R_t (HPLC): 1,82 min (método H)

Etapla 4:

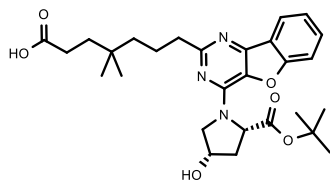
El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-D** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 522,6 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 2,96 min (método G)

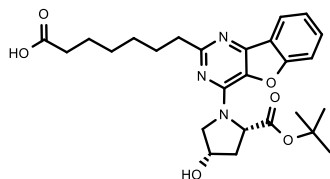
Intermediario N-M:

La preparación se realizó de manera análoga al procedimiento descrito para la síntesis del Intermediario **N-L**, con la aplicación de 3-amino-6-cloro-1-benzofuran-2-carboxamida (preparada como se describe en EP1710233) como material de inicio en la etapa 2.

Intermediario N-N:

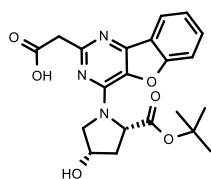
La preparación del Intermediario **N-R** y metil 4,4-dimetilhept-6-enoato fue análoga a la secuencia de reacción descrita para la síntesis del Intermediario **N-J**.

Intermediario N-O:



Preparación a partir del intermediario **N-R** y etil 6-heptenoato de manera análoga a la secuencia de reacción descrita para la síntesis del intermediario **N-J**.

Intermediario N-P:

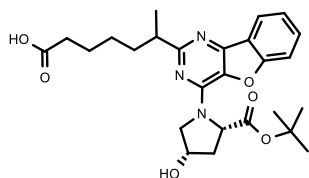


El Intermediario **N-U** se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-E** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 414 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,55 min (método B)

Intermediario N-Q:



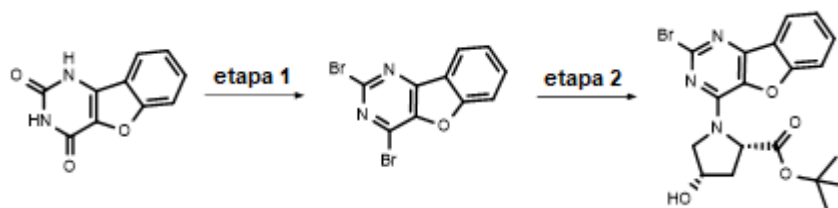
Ter-butyl

(2S,4S)-1-[4-(7-etoxi-7-oxohept-1-en-2-il)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato, que se formó como un subproducto en la etapa 1 de la síntesis del Intermediario **N-O**, se aisló mediante RP HPLC y se hizo reaccionar adicionalmente de acuerdo con la secuencia de reacción descrita para la preparación del Intermediario **N-O** para obtener el compuesto del título.

Intermediario N-R:

Ter-butyl

(2S,4S)-1-{4-bromo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),3,5,9,11-hexaen-6-il}-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato



Etapa

1:

4,6-dibromo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),3,5,9,11-hexaeno

La mezcla de 1H-benzo[4,5]furo[3,2-d]pirimidin-2,4-diona (11,6 g; 0,0573 mol) y tribromuro de fosforilo (40,8 ml, 0,402 mol) se calentó a 150 ° C durante 3 h. La mezcla se enfrió hasta RT, et pH se ajustó hasta pH = 7 mediante el uso de solución de bicarbonato de sodio sat. ac. mientras se enfriaba a 0 °C, y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron en sulfato de sodio y se evaporaron a presión reducida. El residuo restante se purificó al disolverlo en una mezcla de DCM (3 V hasta el peso del crudo) y EtOAc (3 V hasta el peso del crudo) mientras se agitaba. Después de agitar a RT durante 30 min, la mezcla se filtró y el sobrenadante se evaporó a presión reducida.

ESI-MS: 327/329/331 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 min (método A)

Etapa

2:

ter-butil

(2S,4S)-1-{4-bromo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),3,5,9,11-hexaen-6-il}-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato

A

una

mezcla

de

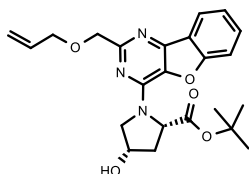
4,6-dibromo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),3,5,9,11-hexaeno

(5,56 g, 16,9 mmol) en 93 ml de DMF, se le agregó clorhidrato de ter-butil (2S,4S)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (4,17 g, 16,6 mmol) y carbonato de potasio (7,03 g, 50,8 mmol). Después de agitar a RT durante la noche, la mezcla de reacción se vertió en agua y se neutralizó con solución HCl 4M ac. El precipitado se recolectó mediante filtración y se secó al vacío.

ESI-MS: 434/436 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,64 min (método A)

Intermediario N-S:

**Etapla 1:**

Se disolvió ácido 2-aliloxiacéteico (9,02 g; 73,8 mmol) en DCM con una gota de DMF y se enfrió hasta 0 °C. Se agregó cloruro de oxalilo (23,4 g; 184 mmol) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Luego, el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en DMF y se agregó a una solución agitada de 3-aminobenzofuran-2-carboxamida (13,0 g; 73,8 mmol) en DMF. Después de 2 h, la mezcla se vertió en 100 ml de agua y se agitó durante 5 min. El sólido formado se recolectó, se disolvió en DCM y se secó en sulfato de magnesio. Los volátiles se evaporaron y el sólido se trituyó con *ter*-butil metil éter para obtener 3-[2-(prop-2-en-1-iloxy)acetamido]-1-benzofuran-2-carboxamida.

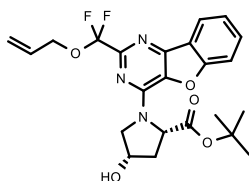
Etapla 2:

Se agitó una suspensión del producto de la etapa 1 en hidróxido de sodio ac. 4 M durante 2 h a 70 °C. La mezcla se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico ac., y el precipitado formado se recolectó y se secó para obtener 4-[(prop-2-en-1-iloxy)metil]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,10,12-pentaen-6-ona.

El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar adicionalmente en una secuencia de 2 etapas de acuerdo con el procedimiento general **Int-C** y luego **Int-D** para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 426 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,49 min (método A)

Intermediario N-T:**Etapla 1:**

Se agregó hidruro de sodio (60 % en aceite mineral; 1,73 g, 44,2 mmol) en porciones a 2-cloro-2,2-difluoroacetato de sodio (4,5 g, 29,5 mmol) y prop-2-en-1-ol

(2,14 g, 36,8 mmol) en THF (30 ml) a 0 °C durante un período de 2 minutos en nitrógeno. La suspensión resultante se agitó a 65 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con ácido clorhídrico ac. (2 M) hasta llegar a pH = 5-6, y luego la capa acuosa se extrajo dos veces con DCM (30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para obtener producto crudo. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 0 % -> 30 %) para obtener ácido 2-(aliloxi)-2,2-difluoroacético.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,34 (s, 1H), 6,01 – 5,91 (m, 1H), 5,45 – 5,36 (m, 1H), 5,33 – 5,26 (m, 1H), 4,50 (dt, J = 5,8, 1,2 Hz, 2H)

Etapa 2:

A una solución del producto de la etapa 1 (5 g, 33 mmol) en piridina (100 ml), se le agregó 3-amino-1-benzofuran-2-carboxamida (4,63 g, 26 mmol), seguida de la adición por goteo de tricloruro de fosforilo (15,3 g, 0,1 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a RT. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo tres veces con EtOAc (200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio y se concentraron. El residuo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 15 %) para obtener 3-(2-(aliloxi)-2,2-difluoroacetamido)benzofuran-2-carboxamida.

ESI-MS: 311 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Etapa 3:

El producto de la etapa 2 (3 g, 9,7 mmol) se agregó a hidróxido de sodio ac. (14,5 ml, 4 M, 58,2 mmol), y luego se agregó THF (1,5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a 70 °C. La mezcla de reacción enfriada (RT) se acidificó con ácido clorhídrico ac. (2 M) hasta pH= 5 ~ 6, y el precipitado formado se recolectó y se secó para obtener 2-((aliloxi)difluorometil)benzofuro[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona cruda, que se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 4:

Se cargó un matraz de 3 cuellos y 0,5 L con DMF (1,36 g, 18,6 mmol) y DCM (250 ml) equipado con un termómetro y un globo de nitrógeno. El matraz se enfrió hasta 0 °C, luego se agregó una solución de cloruro de oxalilo (3,54 g, 27,9 mmol) por goteo en DCM (5 ml) durante 5 min, mientras se mantenía la temperatura a de 0 a

5 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. La reacción se enfrió en un baño de agua helada hasta 0 °C y se agregó el producto de la etapa 3 (1,8 g, 6,2 mmol) en porciones. La reacción se agitó a RT durante 15 min y luego a 40 °C durante 2 h. Tras enfriar hasta RT, la reacción se vertió en hielo, se neutralizó con bicarbonato de sodio ac. y se extrajo dos veces con DCM (100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó con sulfato de sodio, y se concentró. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 2 % -> 10 %) para obtener el compuesto del título 2-((aliloxy)difluorometil)-4-clorobenzofuro[3,2-d]pirimidina.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,41 – 8,31 (m, 1H), 7,79 (m, 2H), 7,60 – 7,54 (m, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,06 (dq, J = 10,8, 6,0 Hz, 1H), 5,45 (dd, J = 17,2, 1,2 Hz, 1H), 5,30 (dd, J = 10,4, 1,0 Hz, 1H), 4,70 (d, J = 6,0 Hz, 2H)

Etapa 5:

El producto de la etapa 4 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general **Int-D** para obtener el compuesto del título.

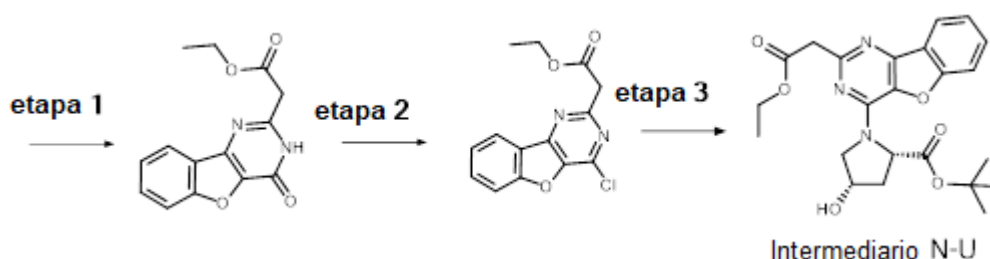
ESI-MS: 462 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,68 min (método A)

Intermediario N-U:

Ter-butil

(2S,4S)-1-[4-(2-etoxi-2-oxoetil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-6-il]-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato



Etapa 1: 2-{6-oxo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,10,12-pentaen-4-il}acetato etil

A una mezcla de etil-3-aminobenzofuran-2-carboxilato (5,00 g; 24,4 mmol) en ácido clorhídrico ac. 4 M (50,00 ml; 200 mmol), se le agregó cianacetato de etilo (5,19 ml; 48,7 mmol) a RT. La mezcla se calentó a 100 °C durante 4 h. Tras enfriar a RT, se agregaron otros 2,6 ml (24,4 mmol) de cianoacetato de etilo y se continuó calentando durante 48 h a 100 °C. El solvente se evaporó y el residuo crudo se diluyó con 100 ml

de MeOH, se filtró y se secó. El producto crudo se llevó directamente a la siguiente etapa.

ESI-MS: 273 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,63 min (método B)

Etapa 2: etil
2-{6-cloro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il}acetato

Una mezcla de etil
2-{6-oxo-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,10,12-pentaen-4-il}acetato (3,35 g; 12,3 mmol) en tricloruro de fosforilo (50,0 ml; 547 mmol) se calentó a 110 °C durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta RT y se agregó por goteo a un baño de hielo (500 ml) con agitación durante 30 min. Se agregó acetato de etilo y se separaron las capas. Se agregó lentamente solución de bicarbonato sat. a la capa orgánica, y se separaron las fases. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío.

ESI-MS: 291 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,43 min (método A)

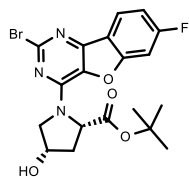
Etapa 3: ter-butil
(2S,4S)-1-[4-(2-etoxi-2-oxoetil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-6-il]-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato

A etil
2-{6-cloro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il}acetato (8,17 mmol; 1,00 eq., 2,50 g) en 30 ml de NMP, se le agregó clorhidrato de ter-butil (2S,4S)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (8,99 mmol; 2,01 g) y DIPEA (27,0 mmol; 4,64 ml), y la mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta RT y se agregaron lentamente 300 ml de agua helada. El precipitado se filtró, se lavó varias veces con agua y se secó.

ESI-MS: 442 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 min (método B)

Intermediario N-V:

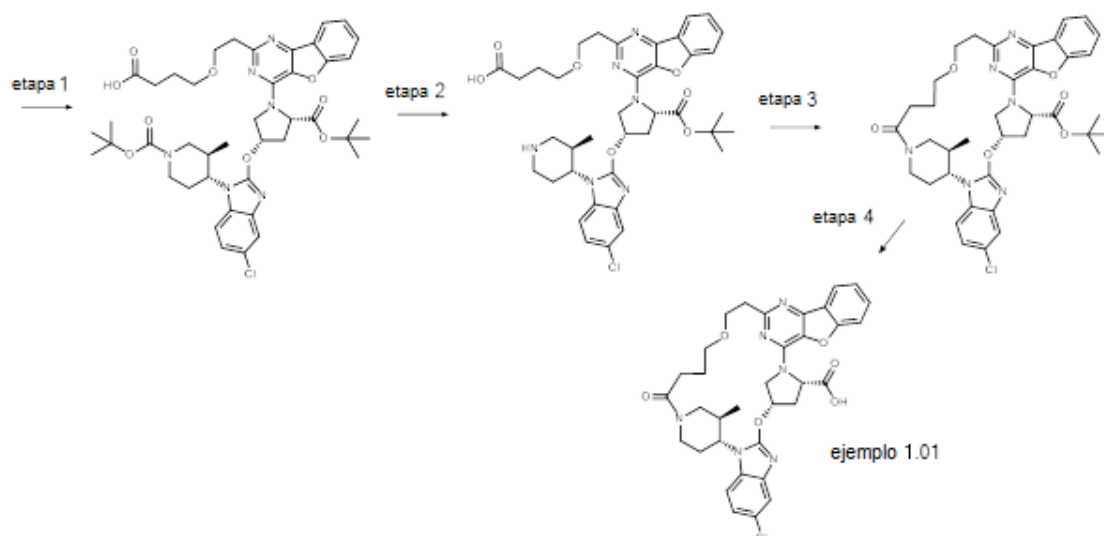


La preparación de 11-fluoro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),9,11-tetraen-4,6-diona fue análoga a la secuencia de reacción descrita para la síntesis del Intermediario **N-R**. El material de inicio 11-fluoro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),9,11-tetraen-4,6-diona se preparó de manera análoga a la síntesis de 11-cloro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2(7),9,11-tetraen-4,6-diona descrita en WO2019059577.

Preparación de los compuestos finales

La configuración absoluta de la porción piperidina de los compuestos donde R2 es un grupo metilo se asignó, en parte (por ejemplo, 1.01), a partir de una estructura cocrystalina con la proteína cGAS humana, de acuerdo con métodos descritos por D. J. Patel *et al.*, PNAS 2019, 11946-11955 (doi.org/10.1073/pnas.1905013116). En otros casos, la configuración absoluta se asignó en función del supuesto de que el diastereoisómero más potente siempre tiene la configuración (S,S,S,S).

Ejemplo 1.01 (procedimientos generales A, B, C, D)



Etapa 1 (procedimiento general A):

En un recipiente de vidrio secado en horno y en atmósfera de argón, al

intermediario **N-A** (216 mg; 0,418 mmol) y al intermediario **B-01** (188 mg; 0,439 mmol) disueltos en DMA (4,05 ml), se les agregó hidruro de sodio (55 % en aceite mineral; 73,0 mg; 1,67 mmol). Una vez que el burbujeo disminuyó, la reacción se calentó hasta 35 °C y se agitó durante 25 min más. Luego, la reacción se inactivó mediante la adición de agua helada, se diluyó con EtOAc y se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico ac. (1 M; 1,7 ml). La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc, posteriormente las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, y se evaporaron hasta secarse. La mezcla de reacción cruda se purificó con FC (gel de sílice; ciclohexano/EtOAc 25 % -> 100 %).

ESI-MS: 833 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,92 min (método B)

Etapa 2 (**procedimiento general B**):

A una mezcla del intermediario de la etapa 1 (272 mg; 0,326 mmol) y ACN (10 ml) se agregó TosOH (124 mg; 0,653 mmol), y la mezcla se agitó durante 3 días a RT en un vial cerrado. Dado que el control de reacción mediante HPLC indicó una conversión baja, se agregó más TosOH (45,0 mg; 0,237 mmol) y la mezcla se calentó adicionalmente a 40 °C hasta que el control de reacción mediante HPLC indicó una conversión alta en el producto deseado. Se agregaron DMF y una gota de agua, y luego la mezcla se filtró y se sometió a purificación con HPLC (Sunfire C18; ACN/agua con TFA como modificador).

ESI-MS: 733 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,62 min (método B)

Etapa 3 (**procedimiento general C**):

En un recipiente secado en horno y en argón, a una solución de HATU (81,2 mg; 0,214 mmol) en DMF (4 ml), se le agregó lentamente, con una bomba de jeringa, una solución del intermediario de la etapa 2 (145 mg; 0,198 mmol) en DMF (12 ml) con agitación enérgica. La mezcla se agitó adicionalmente hasta que la reacción de control por HPLC indicó una conversión alta al producto deseado. Luego, la reacción se inactivó mediante la adición de agua, se extrajo tres veces con EtOAc, las capas orgánicas combinadas se lavaron posteriormente con agua y salmuera, y se evaporaron hasta secarse. La mezcla de reacción cruda se purificó mediante FC (ciclohexano/EtOAc 50 % -> 100 %, luego EtOAc/MeOH 0 % -> 10 %).

ESI-MS: 715 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 min (método B)

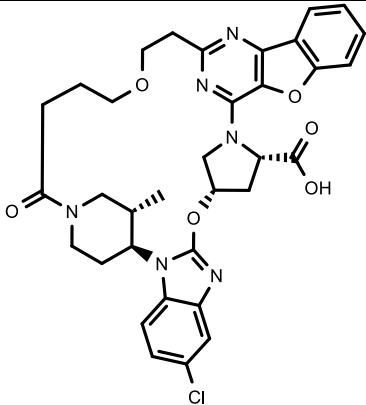
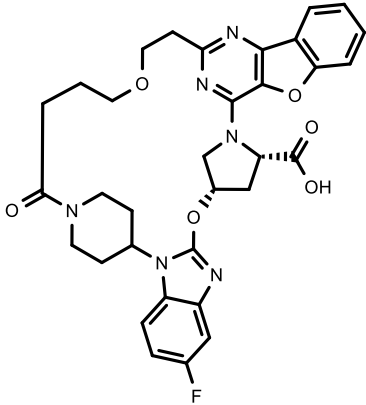
Etapla 4 (procedimiento general D):

Se agitó una mezcla del intermediario de la etapa 3 (79,0 mg; 0,110 mmol), DCM (1,06 ml) y TFA (852 μ l) a RT durante 90 min. Dado que el control de reacción por HPLC indicó una baja conversión, la temperatura se aumentó hasta 37 °C y se continuó agitando durante 3 h. Dado que el control de reacción por HPLC aún indicaba una baja conversión, la temperatura se aumentó hasta 45 °C y se continuó agitando hasta que el control de reacción por HPLC indicó una conversión alta al producto deseado. La mezcla se evaporó y el producto crudo se purificó mediante HPLC preparativa (Sunfire C18; ACN/agua con TFA como modificador).

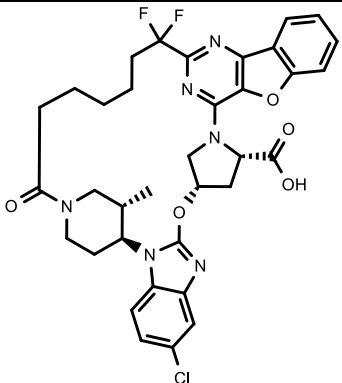
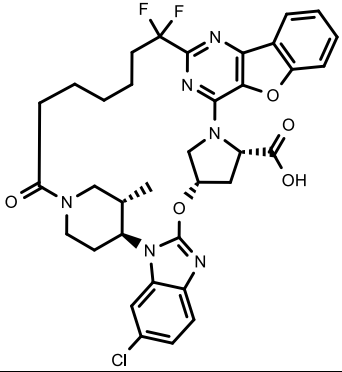
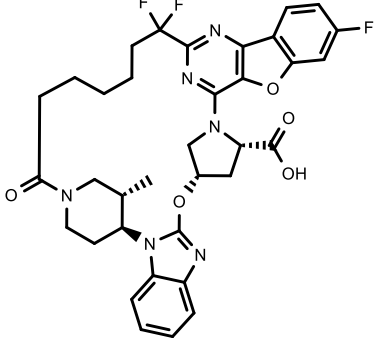
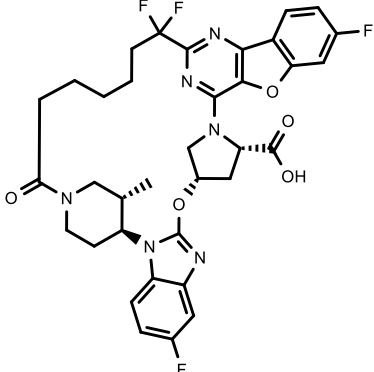
ESI-MS: 659 $[M+H]^+$

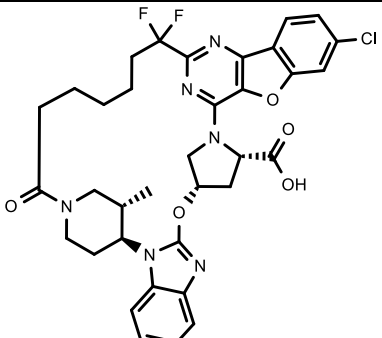
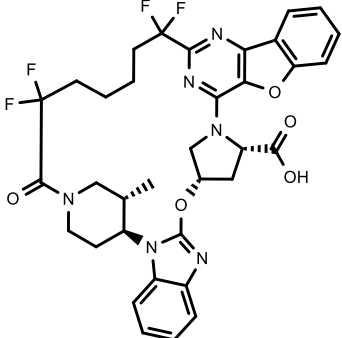
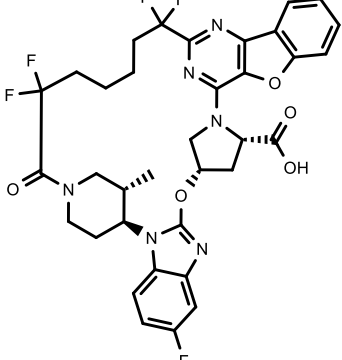
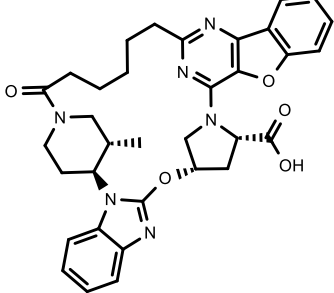
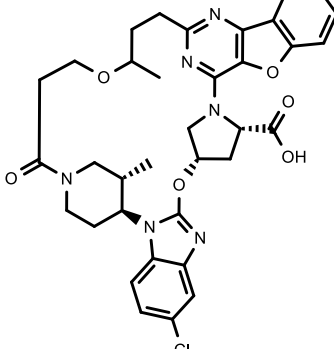
R_t (HPLC): 0,83 min (método E)

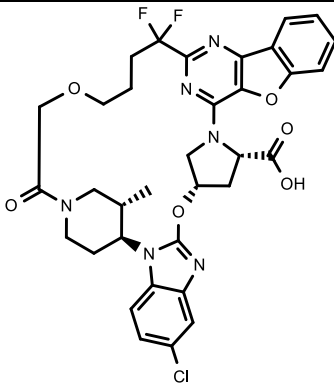
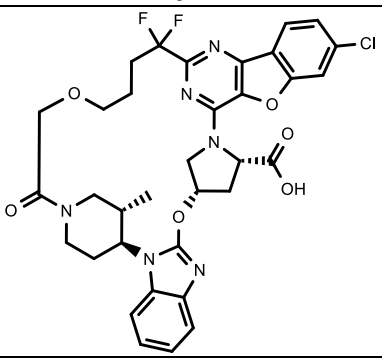
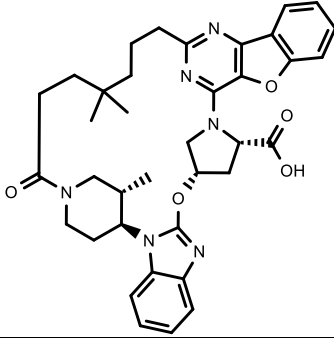
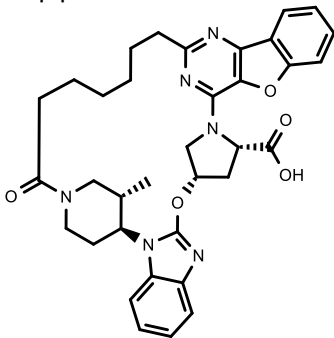
Los siguientes compuestos se prepararon de manera análoga al ejemplo **1.01** descrito anteriormente, según los procedimientos generales A, B, C y D:

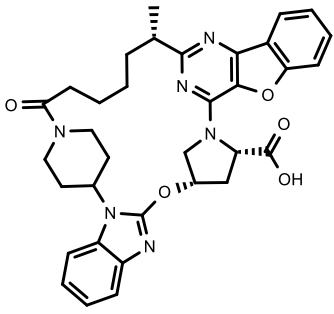
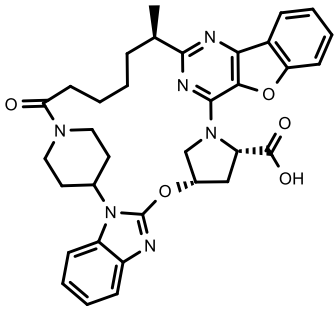
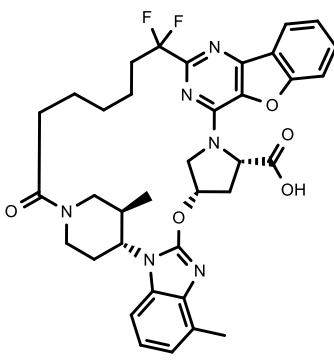
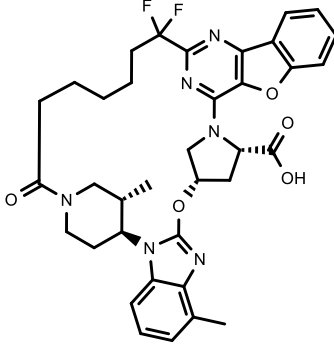
Ej.	Materiales de inicio	Estructura	ESI-MS	R_t (HPLC) [min] (método)	Comentario sobre la síntesis
1.02	Int N-A Int. B-02		659 $[M+H]^+$	0,70 (B)	
1.03	Int N-A Int. B-03		629 $[M+H]^+$	0,51 (A)	

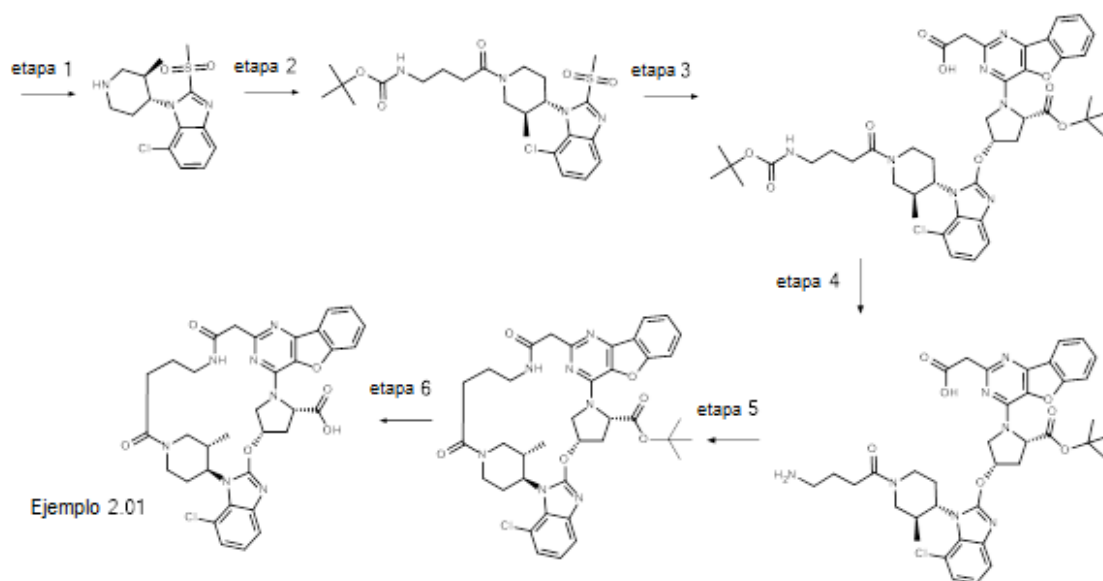
1.08	Int N-B Int. B-02	+		693 [M+H] ⁺	0,61 (A)	
1.09	Int N-C Int. B-02	+		677 [M+H] ⁺	0,56 (A)	
1.10	Int N-D Int. B-06	+		659 [M+H] ⁺	0,59 (A)	
1.11	Int N-E Int. B-02	+		661 [M+H] ⁺	0,82 (C)	Etapas 3 con aplicación de clorhidrato de EDC en DCM como reactivo de acoplamiento

1.12	Int N-F Int. B-02	+		693 [M+H] ⁺	0,79 (A)	
1.13	Int N-F Int. B-06	+		693 [M+H] ⁺	1,13 (B)	
1.14	Int N-G Int. B-05	+		677 [M+H] ⁺	0,70 (A)	
1.15	Int N-G Int. B-07	+		695 [M+H] ⁺	0,73 (A)	

1.16	Int N-H + Int. B-05		693 [M+H] ⁺	0,74 (A)	
1.17	Int N-I + Int. B-05		695 [M+H] ⁺	0,70 (A)	
1.18	Int N-I + Int. B-07		713 [M+H] ⁺	0,73 (A)	
1.19	Int N-J + Int. B-05		609 [M+H] ⁺	0,59 (B)	
1.20	Int N-K + Int. B-02		673 [M+H] ⁺	0,55 (A)	

1.21	Int N-L Int. B-02	+		695 [M+H] ⁺	0,69 (A)	
1.22	Int N-M Int. B-05	+		695 [M+H] ⁺	0,68 (A)	
1.23	Int N-N Int. B-05	+		651 [M+H] ⁺	0,59 (A)	
1.24	Int N-O Int. B-08	+	Mezcla de diastereoisómeros: configuración de trans racémico en piperidina 	623 [M+H] ⁺	0,84 (E)	

1.25	Int N-Q Int. B-10 +		609 [M+H] ⁺	0,60 (B)	Diastereómero puro. La mezcla de diastereómeros que derivan de la etapa 3 se separó mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA). El diastereómero que se eluyó en primer lugar se llevó a la etapa 4.
1.26	Int N-Q Int. B-10 +		609 [M+H] ⁺	0,60 (B)	Diastereómero puro. La mezcla de diastereómeros que derivan de la etapa 3 se separó mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA). El diastereómero que se eluyó en segundo lugar se llevó a la etapa 4.
1.27	Int N-F Int. B-13 +		673 [M+H] ⁺	0,95 (A)	Diastereómero que se eluyó en primer lugar en la purificación de la etapa final mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18; ACN/H2O; modificador: TFA)
1.28	Int N-F Int. B-13 +		673 [M+H] ⁺	0,96 (A)	Diastereómero que se eluyó en segundo lugar en la purificación de la etapa final mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18; ACN/H2O; modificador: TFA)

Ejemplo 2.01:**Etapa 1:**

El Intermediario **B-09** se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general D para obtener la sal de TFA de rac-trans-7-cloro-2-metansulfonil-1-[3-metilpiperidin-4-il]-1H-1,3-benzodiazol.

Etapa 2:

El producto de la etapa 1 se hizo reaccionar con 1,2 eq. de ácido 4-[[[(ter-butoxi)carbonil]amino]butanoico de acuerdo con el procedimiento general C.

Etapa 3:

El producto de la etapa 2 se hizo reaccionar con el Intermediario **N-P** de acuerdo con el procedimiento general A para obtener ácido 2-{6-[(2S,4S)-2-[(ter-butoxi)carbonil]-4-({1-[1-(4-[[[(ter-butoxi)carbonil]amino]butanoil)-3-metilpiperidin-4-il]-7-cloro-1H-1,3-benzodiazol-2-il]oxi)pirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il]acético (con configuración de trans racémico en la porción de piperidina).

Etapa 4:

El producto de la etapa 3 fue desprotegido con BOC mediante reacción con 1,5 eq. de ácido clorhídrico (4 M en dioxano) en dioxano a RT durante la noche. El producto crudo se purificó mediante RP HPLC (Sunfire C18; ACN/agua/modificador: TFA) para obtener una sal de TFA de ácido

2-{6-[(2S,4S)-4-({1-[1-(4-aminobutanoil)-3-metilpiperidin-4-il]-7-cloro-1H-1,3-benzodiazol-2-il}oxi)-2-[(ter-butoxi)carbonil]pirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il}acético (con configuración de trans racémico en la porción de piperidina).

Etapa 5:

El producto de la etapa 4 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general C para obtener ter-butil (12S,14S)-4-cloro-37-metil-29,34-dioxo-11,18-dioxa-2,9,15,26,30,35,40-heptaazaotaciclolo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta-3,5,7,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26-decaen-14-carboxilato (con configuración de trans racémico en la porción de piperidina).

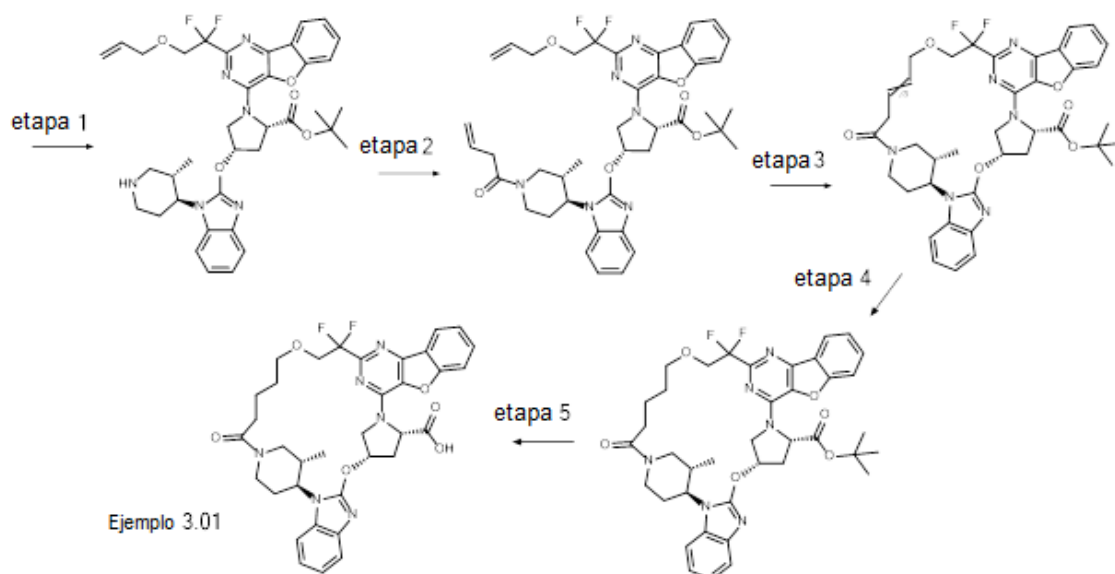
Etapa 6:

El producto de la etapa 5 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general D para obtener el compuesto del título ácido (12S,14S)-4-cloro-37-metil-29,34-dioxo-11,18-dioxa-2,9,15,26,30,35,40-heptaazaotaciclolo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta-3,5,7,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26-decaen-14-carboxílico (con configuración de trans racémico en la porción de piperidina).

ESI-MS: 672 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,88 min (método E)

Ejemplo 3.01



Etapa 1:

El Intermediario **1.02** fue desprotegido con BOC de acuerdo con el procedimiento general B para obtener la sal de TFA de ter-butil (2S,4S)-1-{4-[1,1-difluoro-2-(prop-2-en-1-ilo)etil]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il}-4-({1-[(3S,4S)-3-metilpiperidin-4-il]-1H-1,3-benzodiazol-2-il}oxi)pirrolidin-2-carboxilato.

ESI-MS: 689 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,62 min (método A)

Etapa 2:

Procedimiento general G:

A una solución del producto de la etapa 1 (105 mg; 0,127 mmol) y ácido vinilacético (14,5 µl; 0,165 mmol) y DMAP (2,0 mg; 0,016 mmol) en DCM (1,05 ml) a 0 °C, se le agregó DCC (1 M; 165 µl; 0.165 mmol) por goteo. Durante la agitación, se dejó calentar la mezcla hasta RT y luego agitó durante una hora más. La mezcla se evaporó hasta secarse y el residuo se sometió a FC (CH/EtOAc 40 % -> 100 %). El producto impuro resultante se purificó adicionalmente mediante RP HPLC (Sunfire C18; ACN/agua, modificador: TFA) para obtener ter-butil (2S,4S)-4-({1-[(3S,4S)-1-(but-3-en-1-ilo)-3-metilpiperidin-4-il]-1H-1,3-benzodiazol-2-il}oxi)-1-{4-[1,1-difluoro-2-(prop-2-en-1-ilo)etil]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il}pirrolidin-2-carboxilato.

ESI-MS: 757 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,77 min (método A)

Etapa 3:

Procedimiento general H:

A una solución del producto de la etapa 2 (secada mediante codestilación azeotrópica con tolueno; 77,0 mg; 0,102 mmol) en 1,2-dicloroetano (desgasificado; 9,0 ml) en un recipiente de vidrio secado en horno se agregó el catalizador Grubbs II (5,0 mg). La mezcla se agitó durante 24 h a 80 °C, luego se agregó nuevamente la misma cantidad de catalizador y la mezcla se agitó durante 24 h más. La reacción se inactivó mediante la adición de imidazol (10 mg), y luego se dejó enfriar hasta RT. La mezcla se concentró y se sometió a FC (gel de sílice; CH/EtOAc 20 % -> 100 %) para obtener ter-butil

(1S,12S,14S,32E,38S)-28,28-difluoro-38-metil-35-oxo-11,18,30-trioxa-2,9,15,26,36,41-

hexaazaociclo[34.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]dotetraconta-3(8),4,6,9,16(41),17(25),19,21,23,26,32-undecaen-14-carboxilato.

ESI-MS: 729 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,73 min (método A)

Etapa 4:

Una mezcla del producto de la etapa 3 (22,0 mg; 0,0302 mmol), etanol (1,5 ml) y Pd/C al 10 % se mantuvo en hidrógeno (5 psi) en un aparato Parr durante la noche. La mezcla se filtró, se evaporó y se llevó a la siguiente etapa.

ESI-MS: 731 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,09 min (método E)

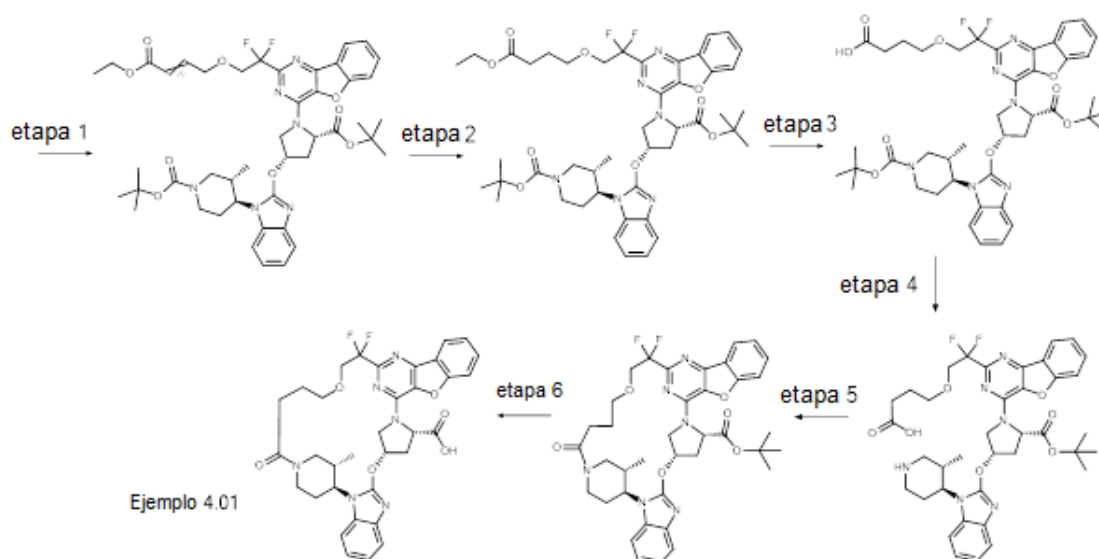
Etapa 5:

El producto de la etapa 4 (22,1 mg) se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general D. El producto se purificó adicionalmente mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA).

ESI-MS: 675 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,60 min (método A)

Ejemplo 4.01



Etapa 1:

A una solución desgasificada del Intermediario **I.02** (150 mg; 0,190 mmol) en acrilato de etilo (1,56 ml; 14,3 mmol), se le agregó el catalizador Grubbs II (8,1 mg;

0,0095 mmol). La mezcla se agitó durante 24 h, y luego se evaporó y se sometió a FC (CH/EtOAc 30 % -> 100 %) para obtener ter-butil (3S,4S)-4-(2-([(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-[4-(2-{[4-etoxi-4-oxobut-2-en-1-il]oxi}-1,1-difluoroetil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi)-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 861 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,28 min (método B)

Etapla 2:

Procedimiento general E

Una mezcla del producto de la etapa 1 (140 mg; 0,163 mmol), Pd/C 10 % (28 mg) y etanol (2,0 ml) se hizo reaccionar en un aparato Parr a RT en hidrógeno (50 psi) hasta que el control de HPLC indicó la conversión del material de inicio (4 horas). La mezcla se filtró, se concentró a presión reducida y se sometió a purificación mediante RP HPLC (XBridge C18, ACN/agua, modificador: TFA) para obtener ter-butil (3S,4S)-4-(2-([(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-{4-[2-(4-etoxi-4-oxobutoxi)-1,1-difluoroetil]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi)-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 863 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,28 min (método B)

Etapla 3:

Procedimiento general F

El producto de la etapa 2 (118 g; 0,137 mmol) se absorbió en una mezcla de hidróxido de litio ac. (2 M; 153 µl; 0,306 mmol), MeOH (0,80 ml) y THF (4,0 ml). La mezcla se agitó a 40 °C hasta que el análisis de HPLC indicó la conversión (7 h), se concentró a presión reducida, se diluyó con agua y se acidificó con una cantidad equimolar de ácido clorhídrico ac. Se agregó una gota de metanol y la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se concentró a presión reducida y se llevó a la siguiente etapa.

Etapla 4:

El producto de la etapa 3 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general B para obtener ácido 4-(2-{6-[(2S,4S)-2-[(ter-butoxi)carbonil]-4-({1-[(3S,4S)-3-metilpiperidin-4-il]-1H-1,3-benz

odiazol-2-il}oxi)pirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-4-il}-2,2-difluoroetoxi)butanoico.

Etapla 5:

El producto de la etapa 4 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general C para obtener ter-butil (1S,12S,14S,37S)-28,28-difluoro-37-metil-34-oxo-11,18,30-trioxa-2,9,15,26,35,40-hexaazaotaciclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta-3,5,7,9,16,19,21,23,25,27(40)-decaen-14-carboxilato.

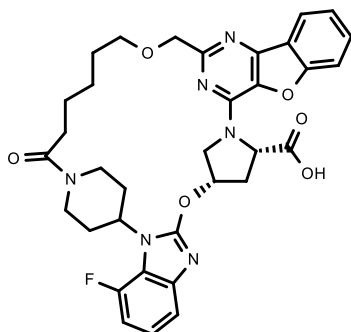
Etapla 6:

El producto de la etapa 5 se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general D para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 661 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,90 min (método B)

Ejemplo 5.01



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-S** y **B-11**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapla 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-S** y **B-11**)

Etapla 2: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

Etapla 3: reacción con ácido 4-pentenoico con la aplicación del procedimiento general G

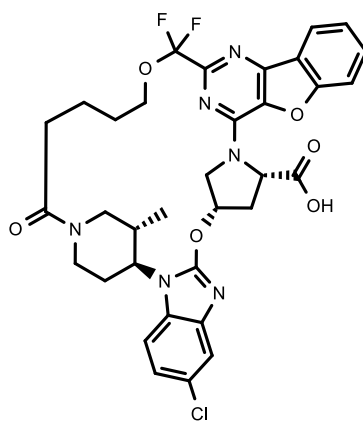
Etapa 4: metátesis con la aplicación del procedimiento general H

Etapa 5: hidrogenación con la aplicación del procedimiento general E

Etapa 6: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 643 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,58 min (método A)



Ejemplo 6.01:

La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-T** y **B-02**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-T** y **B-02**)

Etapa 2: metátesis con metil 3-butenato como segunda olefina con aplicación de una modificación del procedimiento general H (reacción en DCM en RT, con aplicación de 15 eq. de metil 3-butenato y, después de 24 h, la adición de otros 15 eq. de metil 3-butenato y otros 0,3 eq. del catalizador en porciones.

Etapa 3: hidrogenación con aplicación del procedimiento general E (solvente: EtOAc)

Etapa 4: saponificación de éster con aplicación del procedimiento general F (hidróxido de litio ac./THF, 50 °C, 5 h)

Etapa 5: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

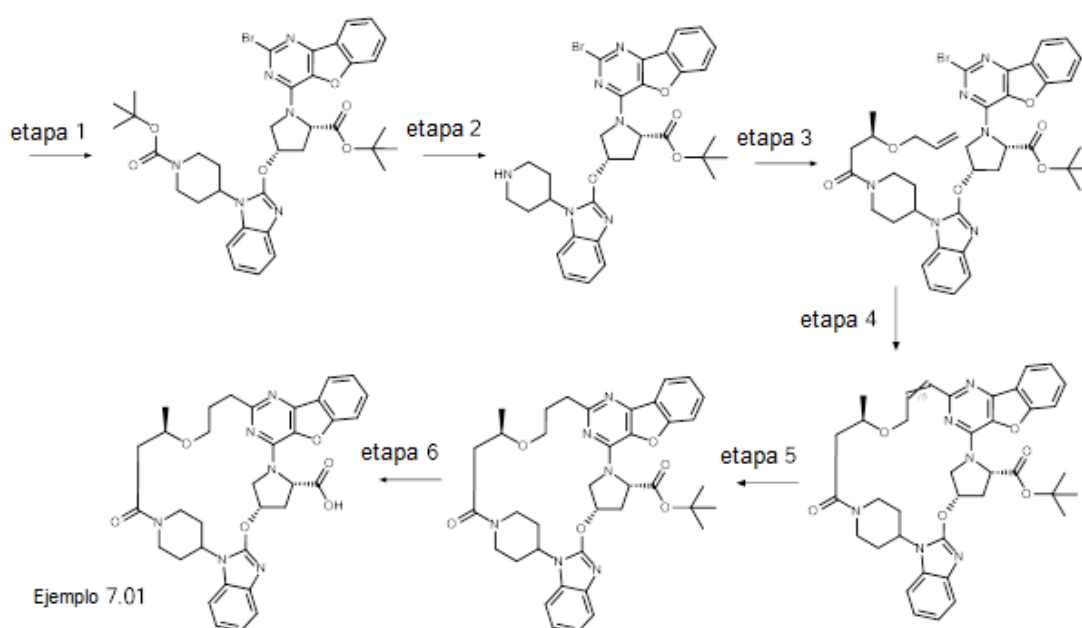
Etapa 6: amidación de cierre del anillo con aplicación del procedimiento C (solvente: DMA)

Etapa 7: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 695 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,72 min (método A)

Ejemplo 7.01:



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-R** y **B-10**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-R** y **B-10**)

Etapa 2: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

Etapa 3: amidación con ácido (3*R*)-3-prop-3-en-1-ilo)butanoico con aplicación del procedimiento general C

Etapa 4:

A una solución desgasificada (en argón) del producto de la etapa 3 (162 mg;

0.213 mmol), carbonato de cesio (174 mg; 0,533 mmol) y yoduro de plata (55,1 mg; 0,235 mmol) en dioxano se agregó el catalizador [1,1"-BIS(DI-TER-BUTILFOSFINO)FERROCEN]DICLOROPALADIO(II) (21,3 mg; 0,0320 mmol). La mezcla se agitó a 120 °C durante 24 h, y luego se dejó enfriar hasta RT. La mezcla se diluyó con ACN/metanol, se filtró y se purificó mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18, ACN/agua, modificador: TFA) para obtener ter-butil (12S,14S,32R)-32-metil-34-oxo-11,18,31-trioxa-2,9,15,26,35,40-hexaazaocataciclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta-3(8),4,6,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26,28-undecaen-14-carboxilato.

ESI-MS: 679 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,60 min (método A)

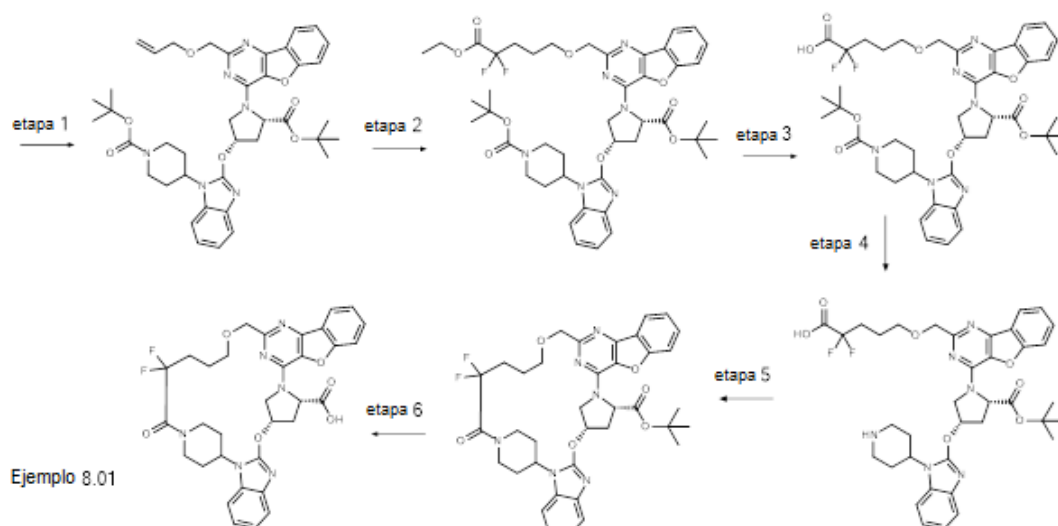
Etapa 5: hidrogenación con aplicación del procedimiento general E.

Etapa 6: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 625 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,47 min (método A)

Ejemplo 8.01:



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-S** y **B-10**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general

A (reactivos: **N-S** y **B-10**)

Etapa 2:

reacción en argón. A una mezcla desgasificada del producto de la etapa 1 (381 mg; 0,500 mmol), cloruro de níquel(II) (3,3 mg; 0,025 mmol), carbonato de sodio (53 mg; 0,50 mmol) y DMF anhidro (4,77 ml) se agregaron a RT etil bromodifluoroacetato (209 mg; 1,00 mmol) y fenilsilano (223 mg; 2,00 mmol). La mezcla se agitó en un recipiente sellado durante 14 h a 70 °C. La mezcla se vertió en salmuera saturada y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc dos veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El producto crudo se purificó mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18; ACN/agua, modificador: TFA) para obtener ter-butil 4-(2-([(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-(4-[(5-etoxi-4,4-difluoro-5-oxopentil)oxi]metil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il)pirrolidin-3-il]oxi)-1 H-1,3-benzodiazol-1-il)piperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 649 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 min (método A)

Etapa 3: saponificación de éster con aplicación del procedimiento general F (hidróxido de litio ac./THF, RT, 2,5 h)

Etapa 4: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

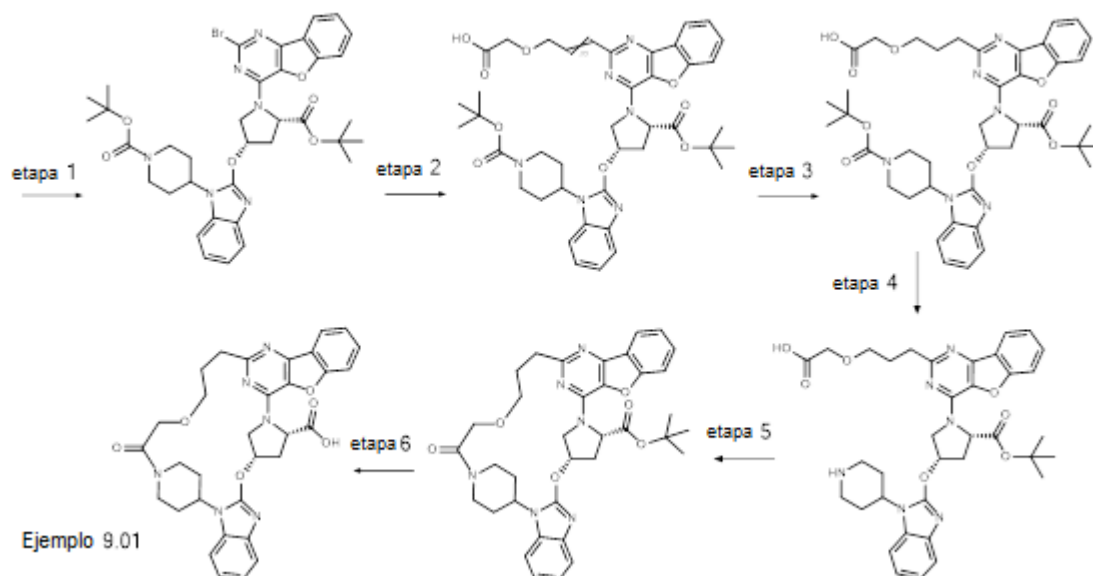
Etapa 5: amidación de cierre del anillo con aplicación de HATU en DMF con aplicación del procedimiento general C

Etapa 6: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 647 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,53 min (método A)

Ejemplo 9.01:



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-R** y **B-10**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-R** y **B-10**)

Etapa 2:

Procedimiento general I:

En argón, se agregaron paladio(II)-acetato (9,0 mg; 0,040 mmol) y tri-*o*-tolilfosfina (24,4 mg; 0,080 mmol) a una solución desgasificada del producto de la etapa 1 (326 mg; 0,400 mmol), ácido aliloxi-acético (133 μ l; 1,20 mmol) y trietilamina (112 μ l; 0,800 mmol) en DMF (6,52 ml). El vial se selló y la mezcla de reacción se agitó durante 2,5 h a 115 °C. La mezcla de reacción se diluyó con ACN/H₂O, se filtró y se purificó directamente mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18; 30 - 100 % ACN/H₂O, modificador: amoníaco) para obtener ácido 2-[[[3-{6-[(2S,4S)-2-[(*ter*-butoxi)carbonil]-4-[(1-{1-[(*ter*-butoxi)carbonil]piperidin-4-il}-1H-1,3-benzodiazol-2-il)oxi]piperidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-4-il}prop-2-en-1-il]oxi]acético como una mezcla de isómeros E/Z.

ESI-MS: 769 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,57/0,58 min (método F)

Etapa 3: hidrogenación con aplicación del procedimiento general E (solvente: EtOAc)

Etapa 4: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

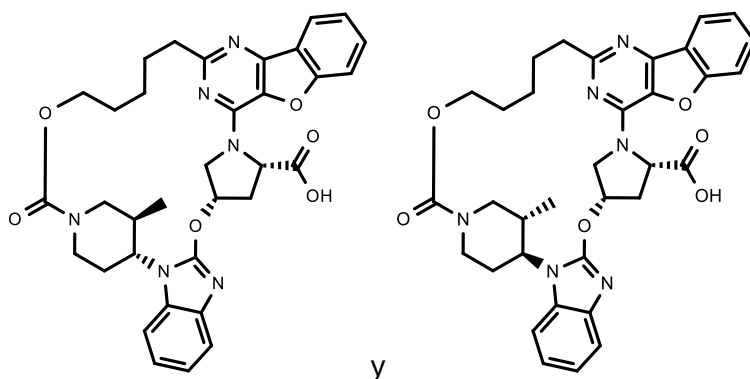
Etapa 5: amidación de cierre del anillo con aplicación de HATU en DMF con aplicación del procedimiento general C

Etapa 6: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 597 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,42 min (método A)

Ejemplo 10.01 y ejemplo 10.02:



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-R** e **I.03**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-R** y **I.03**)

Etapa 2: acoplamiento de tipo Heck con aplicación del procedimiento general I (tiempo de reacción 17 h; 100 °C)

Etapa 3: hidrogenación con la aplicación del procedimiento general E (catalizador: Ni Raney; solvente: metanol)

Etapa 4: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

Etapa 5:

La mezcla diastereomérica resultante se separó mediante SFC preparativa

(instrumento: Sepiatec PrepSFC50; columna: CHIRAL ART Cellulose-SC (10 mm * 250mm, 5 um); fase móvil: A para CO₂ y B para IPA [+20 mM NH₃]; gradiente: B% = 25 % modo de elución isocrática; velocidad de flujo: 15 ml/min; longitud de onda: 220 nm; temperatura de columna: 40 grados Celsius; contrapresión del sistema: 150 bar).

Ejemplo 10.01 (se eluyó en primer lugar)

ESI-MS: 625 [M+H]⁺

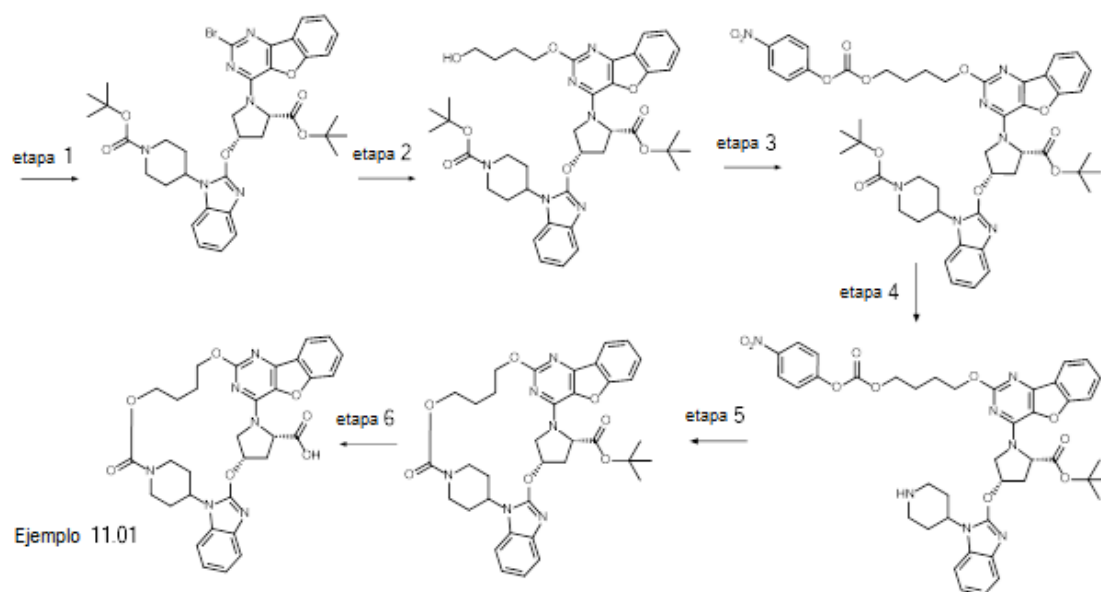
R_t (HPLC): 0,804 min (método E)

y **ejemplo 10.02** (se eluyó en segundo lugar).

ESI-MS: 625 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,814 min (método E)

Ejemplo 11.01:



La síntesis se realizó a partir de los intermediarios **N-R** y **B-10**, con la aplicación de la siguiente secuencia de reacción:

Etapa 1: sustitución aromática nucleofílica con la aplicación del procedimiento general A (reactivos: **N-R** y **B-10**)

Etapa 2:

Una mezcla del producto de la etapa 1 (500 mg; 0,682 mmol), 1,4-butanodiol (1,22 ml; 13,6 mmol), ter-butilato de potasio (229 mg; 2,04 mmol) y ACN (10 ml;

secado en tamices moleculares) se agitó en un vial sellado a 80 °C durante la noche. La mezcla se evaporó y el residuo se sometió a purificación mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA) para obtener ter-butil 4-(2-[[[(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-[4-(4-hidroxibutoxi)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-il]pirrolidin-3-il]oxi]-1H-1,3-benzodiazol-1-il)piperidin-1-carboxilato.

ESI-MS: 743 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,70 min (método A)

Etapas 3:

Una mezcla del producto de la etapa 2 (143 mg; 0,193 mmol), cloroformiato de 4-nitrofenilo (87,1 mg; 0,424 mmol), piridina (103 µl; 1,27 mmol) y DCM (6,0 ml) se agitó a RT durante 4 h. Los volátiles se evaporaron y el producto crudo se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapas 4: Se realizó la desprotección con BOC ácido con la aplicación de las condiciones del procedimiento general D.

Etapas 5:

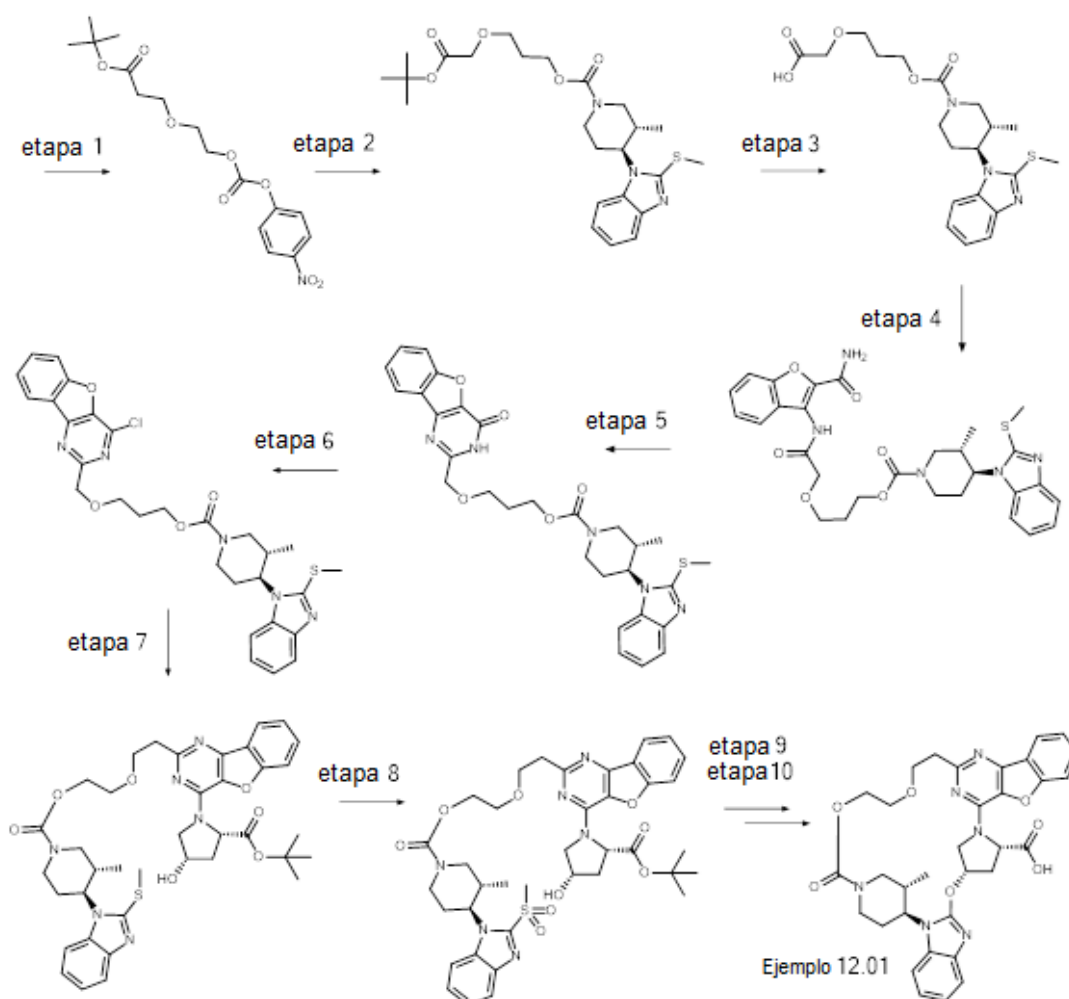
Para que el carbamato forme el cierre de anillo, el producto crudo de la etapa 4 se absorbió en un exceso de DIPEA y se agitó durante 90 min a 70 °C. La mezcla se evaporó y se llevó a la siguiente etapa sin purificación.

Etapas 6: Etapas 4: desprotección con ter-butil éster con la aplicación del procedimiento general D

ESI-MS: 613 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,50 min (método A)

Ejemplo 12.01 (mezcla racémica de isómeros *trans*):



Etapa 1:

A una mezcla de ter-butil-3-(2-hidroxietoxi)propanoato (1,45 g; 7,62 mmol), piridina (663 mg; 8,38 mmol) y DCM (15 ml) enfriada hasta 0 °C, se le agregó por goteo una solución de 4-nitrofenil-cloroformiato (1,54 g; 7,62 mmol) en DCM (15 ml). La mezcla se agitó a RT durante la noche, luego se diluyó con DCM y se extrajo con agua. La capa orgánica se evaporó y el producto crudo se llevó a la siguiente etapa.

Etapa 2:

Una mezcla del producto crudo de la etapa 1 (686 mg), el Intermediario **B-12** (500 mg), diisopropil-etilamina (742 µl) y THF (8,0 ml) se sometió a reflujo durante 2 h. La mezcla se evaporó, se absorbió en EtOAc y se extrajo dos veces con hidróxido de sodio ac. (1 M), luego se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se evaporó hasta secarse, y el producto de reacción crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 5 % -> 35 %) para obtener ter-butil 2-{3-[3-metil-4-[2-(metilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-1-il]piperidin-1-carboniloxi]propoxi}

acetato de trans racémico.

ESI-MS: 478 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,85 min (método E)

Etapla 3: escisión de éster acídico con la aplicación del procedimiento general D sin purificación cromatográfica.

Etapla 4:

a una solución del producto de la etapa 3 (579 mg) en ACN (10 ml) se agregó 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (259 µl; 3,92 mmol) a RT. La mezcla se agitó a durante la noche, se evaporó, se absorbió en DCM y se extrajo con agua. La capa orgánica se evaporó y se sometió a FC (gel de sílice; éter de petróleo/EtOAc 45 % -> 95 %).

ESI-MS: 580 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,81 min (método E)

Etapla 5:

El producto de la etapa 4 (650 mg; 1,12 mmol) se suspendió en hidróxido de sodio ac. (4 M; 15 ml). La mezcla se agitó a 60 °C durante 1 h, luego se dejó enfriar hasta RT, se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico ac. (4 M). El sobrenadante se decantó y el sólido se sometió a purificación mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA).

ESI-MS: 562 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,76 min (método E)

Etapla 6:

El producto de la etapa 5 (390 mg; 0,694 mmol) se suspendió en tricloruro de fosforilo (6 ml). La mezcla se agitó a 90 °C durante 1 h y luego se evaporó. Al residuo se le agregó agua cuidadosamente y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó y se evaporó hasta secarse para obtener 3-({6-cloro-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-yl}metoxi)propil-3-metil-4-[2-(metilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-1-il]piperidin-1-carboxilato trans racémico.

ESI-MS: 580, 582 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,89 min (método E)

Etapas 7:

Una mezcla del producto de la etapa 6 (300 mg; 0,517 mmol), clorhidrato de ter-butil (2S,4S)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (142 mg; 0,621 mmol), carbonato de potasio (173 mg; 1,19 mmol) y DMF (7,0 ml) se agitó a RT durante la noche. Se agregó agua, y el precipitado se recolectó y purificó mediante RP HPLC (Sunfire C18, ACN/agua, modificador: TFA) para obtener 3-({6-[(2S,4S)-2-[(ter-butoxi)carbonil]-4-hidroxipirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il}metoxi)propil-3-metil-4-[2-(metilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-1-il]piperidin-1-carboxilato (con configuración de trans racémico de la porción de piperidina).

ESI-MS: 731 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,77 min (método E)

Etapas 8:

El producto de la etapa 7 (239 mg; 0,327 mmol) se disolvió en DCM (8,0 ml). Se agregó ácido m-cloroperbenzoico (77 %; 161 mg; 0,719 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 h, y luego se lavó con solución de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se evaporó para obtener 3-({6-[(2S,4S)-2-[(ter-butoxi)carbonil]-4-hidroxipirrolidin-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-4-il}metoxi)propil-4-(2-metansulfonil-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato (con una configuración de trans racémico de la porción piperidina).

ESI-MS: 763 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,85 min (método E)

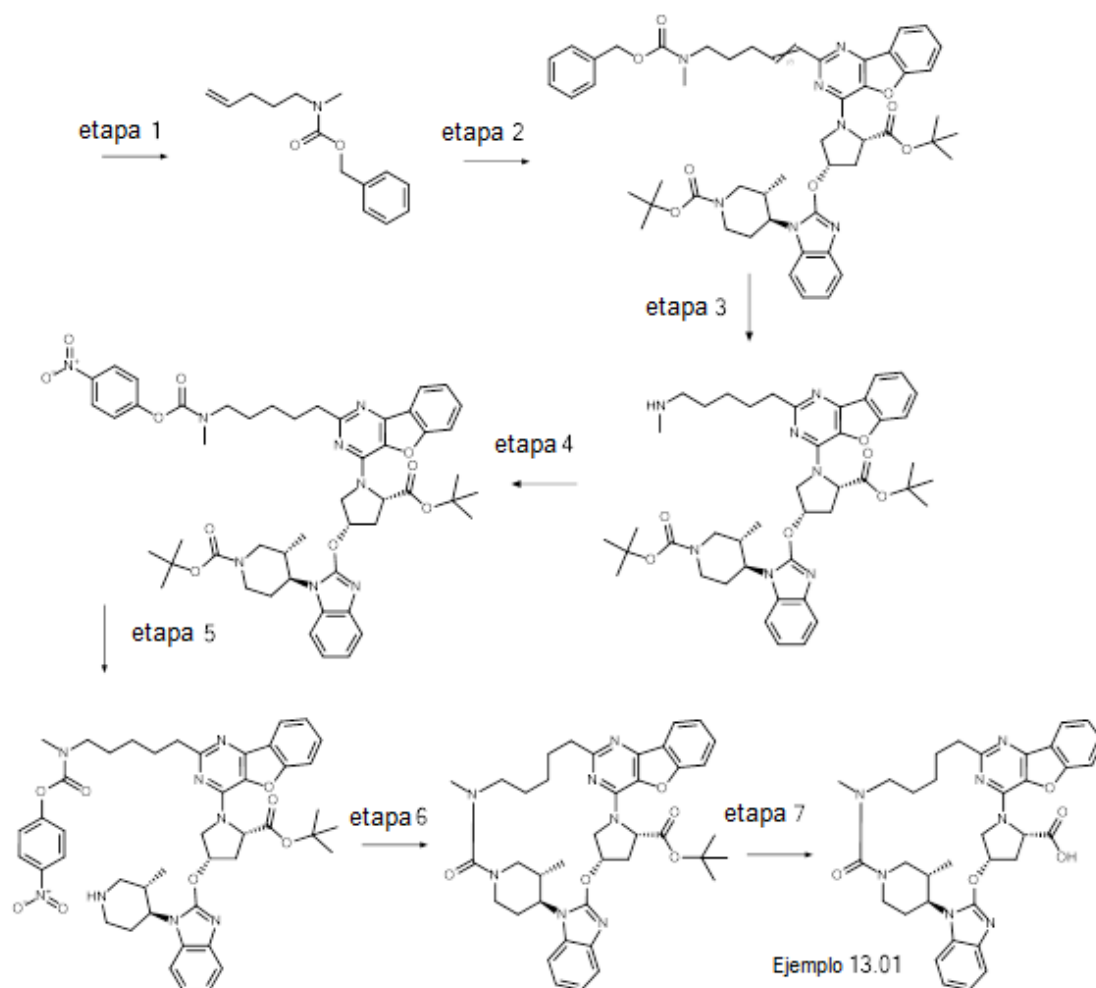
Etapas 9: ciclización mediante sustitución nucleofílica aromática con aplicación del procedimiento general A.

Etapas 10: escisión de ter-butiléster ácido con aplicación del procedimiento general D para obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 627 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,83 min (método E)

Ejemplo 13.01:



Etapa 1:

A una solución helada de N-metil-(pent-4-en-1-il)amina (500 mg; 4,79 mmol) en carbonato de sodio ac. (2 M; 4,79 ml; 9,58 mmol) se agregó cloroformiato de bencilo por goteo (774 μ l; 5,27 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h a 0 °C, luego se diluyó con agua y se extrajo tres veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego con salmuera, se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante FC (gel de sílice; ciclohexano/EtOAc 25 % -> 100 %).

ESI-MS: 234 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 min (método A)

Etapa 2:

reacción en argón en un recipiente de vidrio secado en horno. A una mezcla del producto de la etapa 1 (191 mg; 0,778 mmol), el Intermediario **1.01** (200 mg; 0,259 mmol), diclorhidrato de paladio 1,1'-bis(di-ter-butilfosfino)ferroceno (20,2 mg; 0,0311

mmol) y DMA previamente desgasificado (2,4 ml) se agregó trietilamina (180 µl; 1,30 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó y luego se calentó hasta 115 °C en un vial sellado durante 10 h. La mezcla se evaporó y el residuo se sometió a purificación mediante RP HPLC preparativa (XBridge C18, ACN/agua, modificador: amoníaco) para obtener ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-1-{4-[5-[(benciloxi)carbonil](metil)amino]pent-1-en-1-il]-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-6-il]-5-[(ter-butoxi)carbonil]pírrolidin-3-il]oxi]-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

Etapas 3: hidrogenación (incluida la desprotección con Cbz) con la aplicación del procedimiento general E sin purificación cromatográfica.

Etapas 4:

A una solución del producto crudo de la etapa 3 (199 mg) en DCM (3 ml) se agregó trietilamina (125 µl; 1,04 mmol) y cloroformiato de 4-nitrofenilo (53 mg; 0,26 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 1 h. La mezcla se evaporó y se sometió a purificación mediante FC (ciclohexano/EtOAc 20 % -> 100 %) para obtener ter-butil (3S,4S)-4-(2-[[[(3S,5S)-5-[(ter-butoxi)carbonil]-1-[4-(5-{metil[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino}pentil)-8-oxa-3,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3,5,10,12-hexaen-6-il]pírrolidin-3-il]oxi]-1H-1,3-benzodiazol-1-il)-3-metilpiperidin-1-carboxilato.

Etapas 5: desprotección con BOC con aplicación del procedimiento general B

Etapas 6:

El producto crudo de la etapa 5 se agregó por goteo mediante una bomba de jeringa durante 25 minutos a una solución de N,N-diisopropiletilamina (49 µl) en THF (1,5 ml). La mezcla se agitó a 80 °C durante 10 h. La mezcla se pasó a través de un cartucho de bicarbonato de sodio y se evaporó. Se agregaron N-metilpirrolidona (3,0 ml) y DIPEA (100 µl), y la mezcla se calentó en un horno microondas hasta 180 °C durante 30 min. La mezcla se sometió a purificación mediante RP HPLC (XBridge C18, ACN/agua, modificador: TFA).

ESI-MS: 695 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,61 min (método A)

Etapas 7: escisión de ter-butil éster con aplicación del procedimiento general D para

obtener el compuesto del título.

ESI-MS: 638 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,55 min (método A)

OBSERVACIONES TÉCNICAS GENERALES

La expresión "temperatura ambiente" y el término "RT" se usan de manera indistinta y designan una temperatura de alrededor de 20 °C, por ejemplo, de 15 a 25 °C.

Por regla general, se han obtenido espectros de ¹H NMR y/o espectros de masas de los compuestos preparados. A menos que se indique lo contrario, todas las operaciones cromatográficas se realizaron a temperatura ambiente.

Lista de abreviaturas

ACN	acetonitrilo
ac.	acuoso
BOC	<i>ter</i> -butiloxicarbonilo
°C	grados Celsius
CH	ciclohexano
DCM	diclorometano
DIPEA	diisopropiletilamina
DMA	dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDC	(([3-(dimetilamino)propil]imino}metiliden)(etil)amina
ESI-MS	espectrometría de masas de ionización por electropulverización (m/z)
EtOAc	acetato de etilo
FC	cromatografía flash, se usa SiO ₂ si no se brindan más detalles
Grubbs II	DICLORO[1,3-BIS(2,4,6-TRIMETILFENIL)-2-IMIDAZOLIDINILIDEN]-(BENCILIDEN)-(TRICICLOHEXILFOSFIN)RUTENIO(II)
h	horas
HCl	cloruro de hidrogeno
HATU	hexafluorofosfato de [dimetilamino-(1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-

	3-iloxi)-metileno]-dimetil-amonio
HPLC	cromatografía de líquidos de alta resolución
IPA	isopropanol
MeOH	metanol
min	minuto
ml	mililitro
M	molar
n.d.	no determinado
Pd/C (x%)	paladio (x porcentaje en peso) en carbón
PFTU	hexafluorofosfato de pentafluorfenol-tetrametiluronio
rac	racémico
RP	Fase inversa
RT	temperatura ambiente (alrededor de 20 °C)
SFC	Cromatografía de fluidos supercríticos
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TosOH	monohidrato de ácido p-toluenosulfónico
R _t	tiempo de retención en minutos
% en vol	porcentaje en volumen

Métodos analíticos (HPLC/SFC):

Método de HPLC A:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	99,0	1,0	1,6
0,02	99,0	1,0	1,6
1,0	0,0	100,0	1,6
1,1	0,0	100,0	1,6

Columna: XBridge BEH C18_2,1 x 30 mm_1,7 µm (Waters); CT: 60 °C

Método de HPLC B:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	95,0	5,0	1,5
1,3	0,0	100,0	1,5
1,5	0,0	100,0	1,5

Columna: Sunfire C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Método de HPLC C:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	99,0	1,0	1,5
0,2	99,0	1,0	1,5
1,0	0,0	100,0	1,5
1,1	0,0	100,0	1,5

Columna: XSelect HSS PFP_2,1 x 30 mm_1,8 µm (Waters); CT: 60 °C

Método de HPLC D:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	95,0	5	2,2
0,05	95,0	5	2,2
1,4	0,0	100,0	2,2
1,8	0,0	100,0	2,2

Columna: Zorbax StableBond C18_3,0 x 30 mm_1,8 µm (Agilent); CT: 60 °C

Método de HPLC E:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	97,0	3,0	2,2
0,2	97,0	3,0	2,2
1,2	0,0	100,0	2,2
1,25	0,0	100,0	3,0
1,4	0,0	100,0	3,0

Columna: Sunfire C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Método de HPLC F:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de TFA)	% en volumen de ACN	Flujo [ml/min]
0,0	95,0	5,0	1,3
0,02	95,0	5,0	1,3
1,0	0,0	100,0	1,3
1,3	0,0	100,0	1,3

Columna: XBridge BEH C18_2,1 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Método de HPLC G:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	% en volumen de ACN (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	Flujo [ml/min]
0,0	80	20	1
3,35	20	80	1
3,75	20	80	1

3,9	5	95	1
4,75	5	95	1
5,0	80	20	1
6,0	80	20	1

Columna: Kinetex XB-C18 2,6 μm (4,6 x 50 mm), 100Å; CT: 25 °C

Método de HPLC H:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	% en volumen de ACN (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	Flujo [ml/min]
0,0	80	20	0,5
0,1	80	20	0,5
1,1	0	100	0,5
2,5	80	20	0,5
3,0	80	20	0,5

Columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm (2,1 x 100 mm); CT: 40 °C

Método de HPLC I:

Tiempo [min]	% en volumen de agua (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	% en volumen de ACN (incl. 0,1 % de ácido fórmico)	Flujo [ml/min]
0,0	90	10	1
3,35	30	70	1
3,9	5	95	1
4,75	5	95	1
5,0	90	10	1
6,0	90	10	1

Columna: Kinetex XB-C18 2,6 μm (4,6 x 50 mm), 100Å; CT: 25 °C

4. EJEMPLOS

5.1 Compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III de la invención

Los siguientes compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III resumidos en la Tabla 1 se sintetizaron y probaron con respecto a sus propiedades farmacológicas en relación con su potencia para inhibir la actividad de cGAS.

En particular, los "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" en relación con la inhibición de cGAS (hcGAS IC₅₀), el "valor IC₅₀ en relación con la inhibición de la inducción IFN en células THP1 estimuladas con virus" (THP_(vir) IC₅₀), el "valor IC₅₀ en relación con la inhibición de la inducción IFN en células THP1 estimuladas con cGAMP" (THP_(cGAMP) IC₅₀) y el "valor IC₅₀ en relación con la inhibición de la inducción IFN en sangre humana completa estimulada con dsADN" (hWB IC₅₀) se han determinado experimentalmente según los métodos de ensayo descritos en la sección

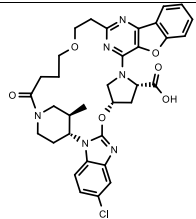
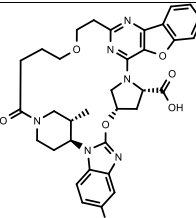
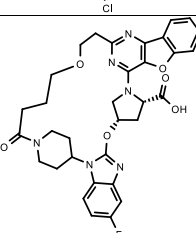
6 a continuación. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

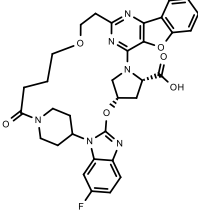
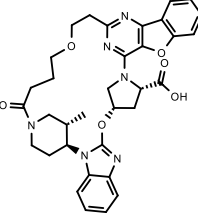
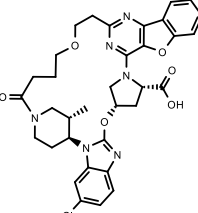
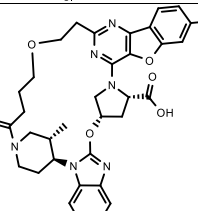
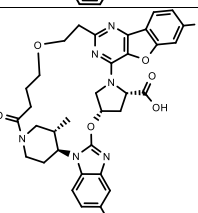
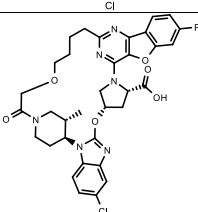
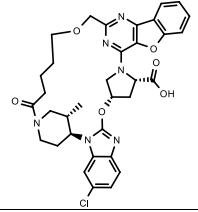
Los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III como se resume en la Tabla 1 muestran, al mismo tiempo, las siguientes tres propiedades:

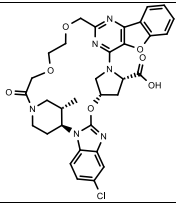
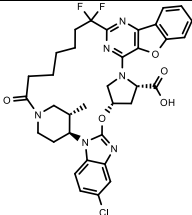
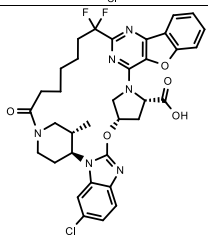
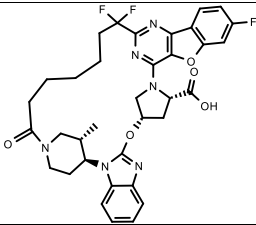
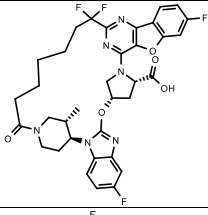
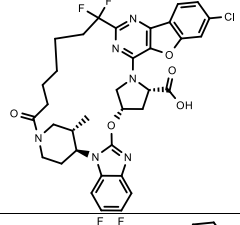
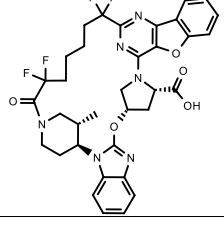
- un "valor IC_{50} bioquímico (in vitro) satisfactorio con respecto a la inhibición de cGAS" (con un IC_{50} de hcGAS de ≤ 100 nm, preferentemente de ≤ 50 nm, en particular de ≤ 10 nm),
- un "valor celular IC_{50} satisfactorio con respecto a la inhibición de cGAS" (con un $THP1_{(vir)}$ IC_{50} de ≤ 1 μ M, preferentemente de ≤ 500 μ M, con mayor preferencia de ≤ 100 μ M, en particular de ≤ 50 μ M)
- y
- una selectividad satisfactoria para la inhibición de cGAS (con una relación $THP1_{(cGAMP)}IC_{50}/THP1_{(vir)}IC_{50}$ de ≥ 10 , con mayor preferencia ≥ 50 , con mayor preferencia ≥ 500 , en particular ≥ 1000).

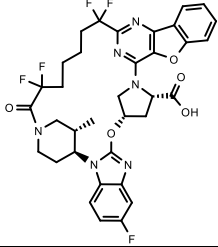
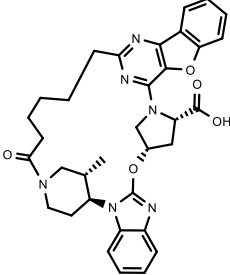
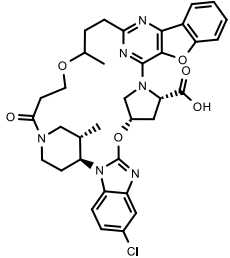
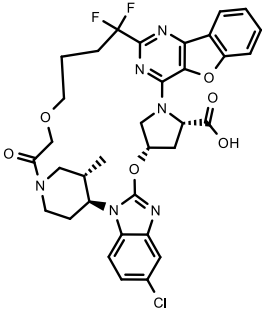
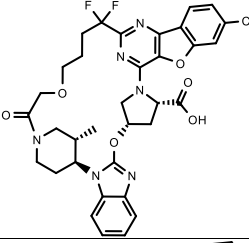
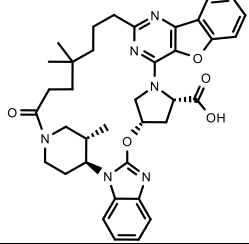
Además, los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III también muestran valores IC_{50} aceptables con respecto a la inhibición de la inducción de IFN en sangre humana completa estimulada con dsADN (hWB IC_{50}).

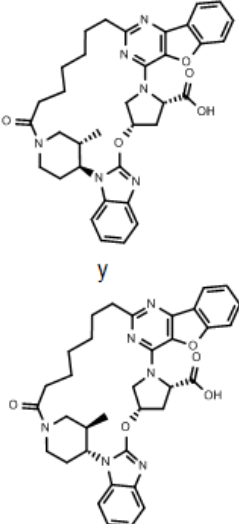
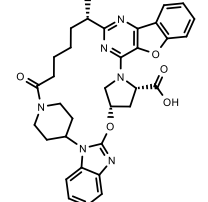
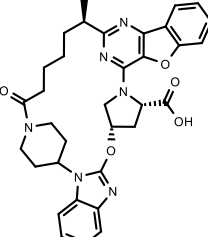
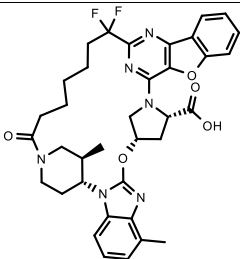
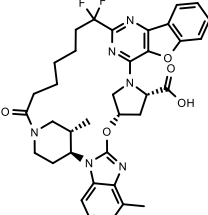
Tabla 1: Propiedades farmacológicas de los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III de la invención

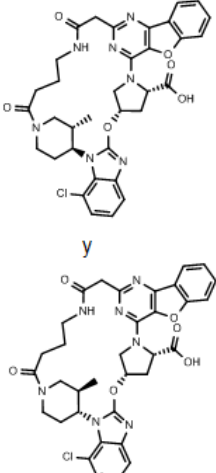
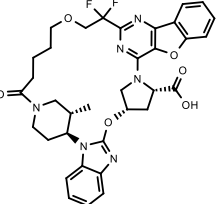
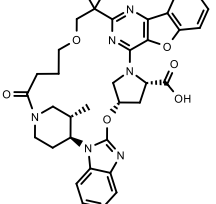
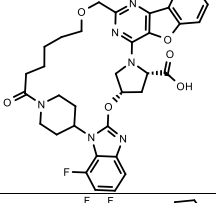
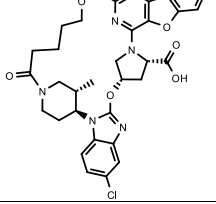
N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC_{50} [nm]	$THP_{(vir)}$ IC_{50} [nm]	$THP_{(cGAMP)}$ IC_{50} [nm]	hWB IC_{50} [nm]	Relación $THP_{(cGAMP)}IC_{50} / THP_{(vir)}IC_{50}$
1.01		14	39	>10000	87	> 253
1.02		2,8	2,8	>10000	5	> 3557
1.03		5,6	110	>10000	36	>90

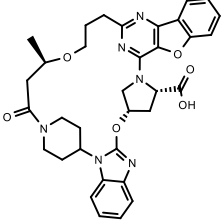
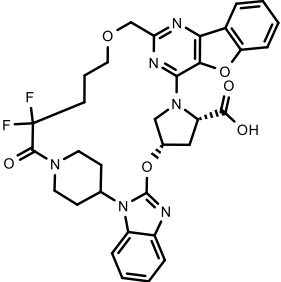
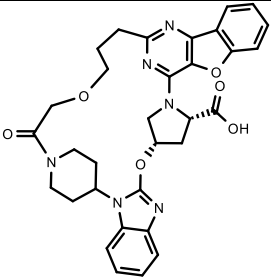
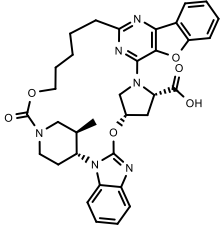
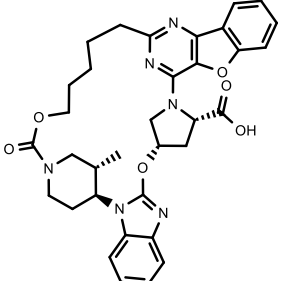
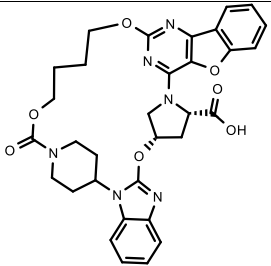
N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.04		4,5	44	>10000	44	>229
1.05		1,8	2,9	>10000	5	>3448
1.06		3,2	4,1	>10000	15	>2417
1.07		3,8	6,5	>10000	13	>1541
1.08		4,5	2,4	9500	17	3928
1.09		3,9	4,3	>10000	2	4305
1.10		5	13	>10000	12	>790

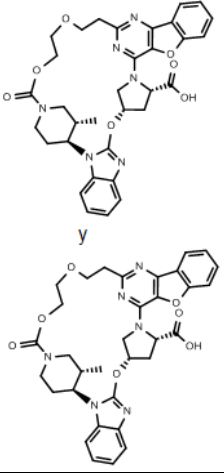
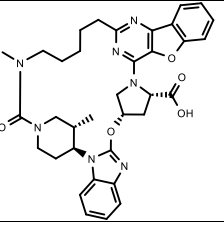
N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.11		1,9	3,6	10000	3	>2907
1.12		5,2	2,2	3600	5	1620
1.13		6,1	4,9	11000	15	2251
1.14		4,1	1,5	18000	4	11920
1.15		3,5	7,1	>10000	3	>1408
1.16		3,3	9,7	11000	10	1134
1.17		7,2	13	6600	8	519

N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.18		3,9	37	10000	10	270
1.19		3,8	40	11000	18	277
1.20		4,9	13	>10000	7	>773
1.21		3,3	1,9	>10000	1	>5238
1.22		2,7	1,5	>10000	4	>6579
1.23		41	190	9500	143	51

N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.24	El ejemplo 1.24 es una mezcla de los siguientes dos diastereoisómeros: 	18	170	11000	86	65
1.25		5,5	8	>10000	41	>1251
1.26		3,4	5,5	15000	19	2687
1.27		100	180	6000	1584	33
1.28		11	15	4000	28	267

N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
2.01	El ejemplo 2.01 es una mezcla de los siguientes diastereoisómeros: 	6	11	> 10000	35	> 948
3.01		2,1	0,44	14000	1	32066
4.01		1,7	0,69	>10000	1	>14442
5.01		5,5	38	>10000	33	>260
6.01		3,5	3,1	>10000	3	>2225

N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _(cGAMP_P) IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
7.01		8,8	150	3500	101	23
8.01		5,6	39	>10000	35	255
9.01		7,5	400	n.d.	41	n.d.
10.01		54	180	8200	439	45
10.02		34	64	>10000	83	>156
11.01		10	180	>1000	138	>56

N.º de ejemplo	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nm]	THP _(vir) IC ₅₀ [nm]	THP _{(cGAMP) P} IC ₅₀ [nm]	hWB IC ₅₀ [nm]	Relación THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
12.01	El ejemplo 12.01 es una mezcla de los siguientes diastereoisómeros: 	8,9	240	>10000	225	>42
13.01		34	500	7300	186	15

5.2 Comparación de los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III con compuestos del estado de la técnica

5.2.1 Compuestos de WO 2020/142729

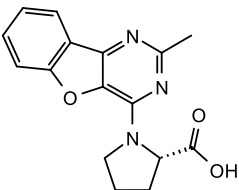
En WO 2020/142729 se divulgaron los inhibidores de cGAS con estructuras parcialmente similares.

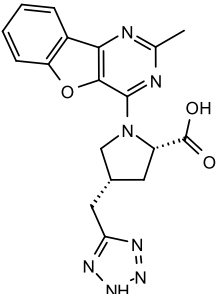
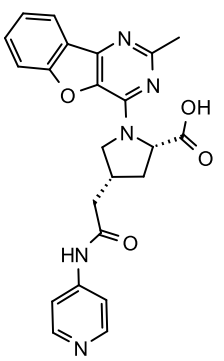
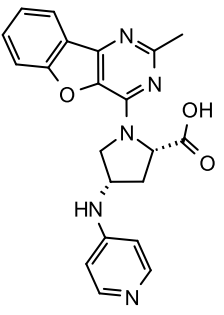
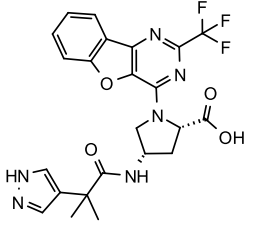
En la página 44 y 45 del WO 2020/142729, se divulgaron los "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" en relación con la inhibición de cGAS (correspondiente a "hcGAS IC₅₀"). Los compuestos de la presente con un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de menos de 100 nM se clasificaron en el "grupo A", los compuestos con un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de más de 100 nM y menos de 500 nM clasificaron en el "grupo B", los compuestos con un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de más de 500 nM y menos de 1 µM se clasificaron en el "grupo C", los compuestos con un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de más de 1 µM y menos de 10 µM se clasificaron en el "grupo D", y los compuestos con un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de más de 10 µM se clasificaron en el "grupo E" (ver la página 44 de WO 2020/142729).

En la página 45 del WO 2020/142729, se divulgó que solo el compuesto N.º 25 se podía clasificar en el "grupo A" que tiene un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" de menos 100 nM. Todos los otros compuestos de ejemplo de WO 2020/142729 muestran "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" de más de 100 nM.

Los compuestos seleccionados del estado de la técnica de WO 2020/142729 se sintetizaron, incluido el compuesto N.º 25, y luego se probaron con respecto a sus propiedades farmacológicas en relación con su potencia para inhibir la vía cGAS/STING mediante el uso de exactamente los mismos ensayos que se usaron para probar los compuestos de la invención. En particular, los "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" en relación con la inhibición de cGAS (hcGAS IC₅₀), los "valores IC₅₀ celulares en relación con la inhibición de la inducción de IFN en células THP1 estimuladas con virus" (THP1_(vir) IC₅₀), el "valor IC₅₀ celular en relación con la inhibición de la inducción de IFN en células THP1 estimuladas con cGAMP" (THP1_(cGAMP) IC₅₀) y el "valor IC₅₀ en relación con la inhibición de la inducción de IFN en sangre humana completa" (hWB) se determinaron experimentalmente para los ejemplos estructuralmente más similares de WO 2020/142729, de acuerdo con los métodos de ensayo descritos en la sección 6 a continuación (ver la Tabla 2).

Tabla 2: Propiedades farmacológicas de una selección de compuestos de ejemplo de WO 2020/142729

N.º de ejemplo (como se divulga en WO 2020/142729)	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nM]	THP1 _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP1 _(cGAMP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]
15		2700	>17000	>17000	-

25		55	>17000	>17000	>9992
28		630	>32000	>17000	>9990
38		3000	>17000	>17000	>9990
58		320	21000	23000	>9982

Las propiedades farmacológicas de los compuestos de ejemplo de la invención que se resumen en la Tabla 1 y las respectivas propiedades farmacológicas de los compuestos de WO 2020/142729 que se resumen en la Tabla 2 se pueden comparar entre sí, ya que se determinaron experimentalmente de acuerdo con los mismos procedimientos de ensayo descritos en la sección 6 a continuación.

A partir de los datos que se muestran en la Tabla 2, está claro que todos los compuestos de ejemplo de WO 2020/142729 muestran "valores IC₅₀ bioquímicos (*in*

vitro)" (= hcGAS IC₅₀) que son significativamente mayores de 100 nM; con la única excepción del Ejemplo N.º 25 de WO 2020/142729 (en WO 2020/142729 clasificado en el "Grupo A" que tiene un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" (= hcGAS IC₅₀) de menos de 100 nM). A diferencia de esto, todos los compuestos de ejemplo de la invención tienen "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" (hcGAS IC₅₀) de menos de 100 nM. Sin embargo, el Ejemplo N.º 25 de WO 2020/142729 que tiene un "valor IC₅₀ bioquímico (*in vitro*)" (hcGAS IC₅₀) de 55 nM, no cumple en absoluto con el criterio de selección de una "una potencia inhibitoria celular satisfactoria" mostrada mediante una THP1_(vir) IC₅₀ de menos de 1 µM, porque THP1_(vir) IC₅₀ para el Ejemplo N.º 25 de WO 2020/142729 es 17 µM.

5.2.2 Compuestos de WO 2022/174012

En WO 2022/174012 se divulgaron los inhibidores de cGAS con estructuras parcialmente similares.

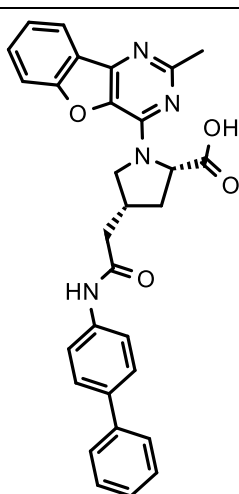
En la página 65 del WO 2022/174012, se divulgaron los "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" en relación con la inhibición de cGAS, y en la página 67 de WO 2022/174012 se divulgaron "los valores IC₅₀ celulares (IFNβ ELISA estimulado con THP-1). El compuesto 5 (BBL0100455) de WO 2022/174012 parece ser el único compuesto de WO 2022/174012 que puede tener el potencial de satisfacer los criterios de selección de la presente invención, que significa que tiene

- a) un "valor IC₅₀ bioquímico (o enzimático) (*in vitro*)" de menos de 100 nM (en el "ensayo enzimático de WO 2022/174012" se midió que el compuesto 5 pertenece al "grupo B" que representa un "valor IC₅₀ enzimático" de 50 nM a 100 nM"; ver la página 65, Tabla 2 de WO 2022/174012)
- b) y que tiene un "valor IC₅₀ celular" (IFNβ ELISA estimulado con THP-1) inferior a 1 µM (en el "ensayo celular" de WO 2022/174012 se midió que el compuesto 5 pertenecía al "grupo A" que representa un "valor IC₅₀ celular" de <1 µM"; ver las páginas 67 y 68, Tabla 3 de WO 2022/174012).

Sin embargo, tanto el ensayo bioquímico/enzimático como los ensayos celulares de WO 2022/174012 no son idénticos a los respectivos "ensayos bioquímicos/enzimáticos y ensayos celulares" de la presente invención y, por lo tanto, los valores IC₅₀ bioquímicos/enzimáticos medidos y los valores IC₅₀ celulares de WO 2022/174012 no son comparables con los respectivos valores IC₅₀ medidos para los compuestos de la presente invención. Por lo tanto, el compuesto 5 de WO

2022/174012 se sintetizó y luego se probó con respecto a sus propiedades farmacológicas en relación con su potencia para inhibir la vía cGAS/STING mediante el uso de exactamente los mismos ensayos que se usaron para probar los compuestos de la presente invención y como se describe en la sección 6 a continuación.

Tabla 3: Propiedades farmacológicas del Compuesto N.º 5 de WO 2022/174012

N.º de ejemplo (como se divulga en WO 2022/174012)	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nM]	THP1 _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP1 _(cGAMP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]
Compuesto 5 (BBL0100455)		55	>10000	>10000	

Como muestran los datos de la Tabla 3, el compuesto N.º 5 (BBL0100455) de WO 2022/174012 tiene un valor IC₅₀ bioquímico/enzimático aceptable de 55 nM (hcGAS IC₅₀ = 55 nM), pero un valor IC₅₀ celular superior a 10000 nM (THP1_(vir) IC₅₀ = 10000 nM). En consecuencia, todos los compuestos de la presente invención son comparables al compuesto N.º 5 de WO 2022/174012 con respecto a sus valores IC₅₀ bioquímicos/enzimáticos, pero son claramente superiores al compuesto N.º 5 de WO 2022/174012 con respecto a sus valores IC₅₀ celulares (que son todos inferiores a 1000 nM para los compuestos de la Fórmula I, II o III de la invención).

5.3 Profármacos

Se sabe que los ésteres de los agentes activos con un grupo de ácido carboxílico pueden representar profármacos viables que pueden, por ejemplo, mostrar una mejor absorción oral/biodisponibilidad en comparación con el agente activo respectivo. Los profármacos de los agentes activos usados frecuentemente con un grupo de ácido carboxílico son, por ejemplo, metilésteres, etilésteres, isopropilésteres, etc. (ver Beaumont *et al.*, Current Drug Metabolism, 2003, Vol. 4, Edición 6, 461 - 485).

Además, Nakamura *et al.*, Bioorganic & Medicinal Chem., Vol. 15, Edición 24, pág. 7720-7725 (2007), describe que también los derivados de N-acilsulfonamida y los derivados de N-acilsulfonilurea de un agente activo específico con un grupo de ácido carboxílico libre tienen el potencial de ser un profármaco viable.

Además, se encontraron indicios experimentales de que también los metilésteres de los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III representan profármacos viables de los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III.

Las solicitudes PCT/EP2022/062480 y PCT/EP2022/062496 (ambas no publicadas hasta ahora) divulgan inhibidores de cGAS estructuralmente similares a los inhibidores de cGAS de la presente invención, que también comprenden un grupo de ácido carboxílico unido a una porción de pirrolidina. En ambas PCT/EP2022/062480 y PCT/EP2022/062496, se demostró experimentalmente que los derivados de ésteres metílicos de estos inhibidores de cGAS, que llevan un grupo de ácido carboxílico unido a la porción de pirrolidina, funcionan como profármacos viables de los inhibidores de cGAS con el grupo de ácido carboxílico libre.

Los compuestos P01, P02, P03 y P04 de PCT/EP2022/062480 eran derivados de éster metílico y profármacos putativos de los respectivos compuestos de ejemplo 4.04, 1.10, 1.12 y 3.14 de PCT/EP2022/062480 (todos los cuales tenían un grupo carboxílico libre y eran inhibidores activos de cGAS con bajos valores de IC₅₀ bioquímico y bajos valores de IC₅₀ celular con respecto a la inhibición de cGAS).

Los compuestos P01, P02 y P03 de PCT/EP2022/062496 eran derivados de éster metílico y profármacos putativos de los respectivos compuestos de ejemplo 2.12, 1.13 y 1.05 de PCT/EP2022/062496 (todos los cuales tenían un grupo carboxílico libre y eran inhibidores activos de cGAS con bajos valores de IC₅₀ bioquímico y bajos valores de IC₅₀ celular en lo que respecta a la inhibición de cGAS).

Tanto en PCT/EP2022/062480 como en PCT/EP2022/062496, se sintetizaron los "inhibidores activos de cGAS/compuestos de ejemplo con su ácido carboxílico libre" y sus "respectivos derivados de éster metílico/profármacos putativos", y se probaron sus propiedades farmacológicas con respecto a su potencia para inhibir la vía cGAS/STING.

Esta comparación de las propiedades de los compuestos de ejemplo de PCT/EP2022/062480 y de PCT/EP2022/062496 con su ácido carboxílico libre, por una parte, y las propiedades de sus correspondientes profármacos putativos/derivados de éster metílico, por la otra, muestra que los "valores IC₅₀ bioquímicos (valores IC₅₀ de hcGAS)" para los compuestos de ejemplo son siempre de alrededor o incluso

inferiores a 10 nM, mientras que los "valores IC₅₀ bioquímicos" (valores IC₅₀ hcGAS) para los correspondientes derivados/profármacos putativos de éster metílico son siempre demasiado grandes, lo que significa generalmente mayores de 7000 nM. Esa gran diferencia entre los valores IC₅₀ de los compuestos del ejemplo, por un lado, y los valores IC₅₀ de sus correspondientes profármacos/derivados de éster metílico, por otro, nunca se observó para los respectivos valores IC₅₀ celulares (valores THP1_(vir)IC₅₀), que siempre se mantienen, en mayor o menor medida, en el mismo intervalo entre los compuestos de ejemplo y sus correspondientes profármacos (ver la Tabla 4 a continuación).

Una posible explicación de esta observación es que todos los compuestos de ejemplo tienen un grupo carboxílico libre que parece ser crucial para la inhibición de la actividad de cGAS, mientras que en todos los "profármacos/derivados de éster metílico/profármacos", el grupo carboxilo está enmascarado por un grupo éster de carboximetilo. En consecuencia, los profármacos/derivados de éster metílico pierden su potencia inhibidora en el "ensayo enzimático *in vitro* de cGAS humano" (ver la sección 6.1 a continuación), debido a que en este ensayo están ausentes las enzimas intracelulares que escinden el grupo éster de carboximetilo y, por tanto, el grupo crucial de ácido carboxílico libre no se puede restablecer en el ensayo bioquímico. Por lo tanto, los profármacos muestran "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" (=hcGAS IC₅₀) extremadamente grandes en este "ensayo enzimático *in vitro* de cGAS humano", mientras que los correspondientes compuestos de ejemplo (que representan un grupo de ácido carboxílico libre desde el comienzo) muestran "valores IC₅₀ bioquímicos (*in vitro*)" (=hcGAS IC₅₀) pequeños.

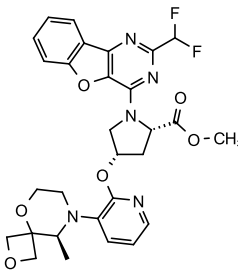
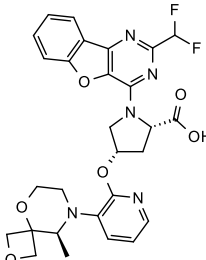
En el ensayo de células (= "ensayo de cGAS humano y de recuento de células" (ver la sección 6.2 a continuación), están presentes las enzimas celulares endógenas que escinden el grupo éster de carboximetilo. En consecuencia, no sólo los propios compuestos de ejemplo de PCT/EP2022/062480 y de PCT/EP2022/062496 (que ya llevan un grupo de ácido carboxílico libre) muestran valores IC₅₀ de THP1_(vir) pequeños, sino que también los correspondientes profármacos/derivados de éster metílico muestran "valores IC₅₀ de THP1_(vir)" relativamente pequeños, porque en este "ensayo de células cGAS humanas" el grupo éster de carboximetilo de los profármacos puede ser escindido por enzimas intracelulares endógenas y así liberar los "compuestos de ejemplo activos con el grupo de ácido carboxílico libre" que vuelve a mostrar potencia inhibidora de cGAS.

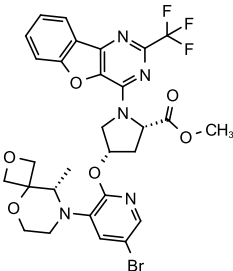
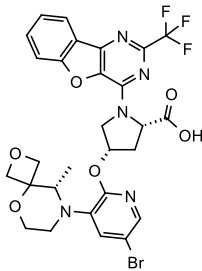
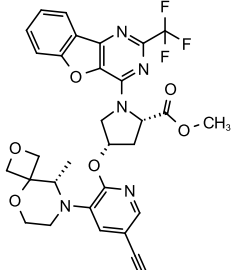
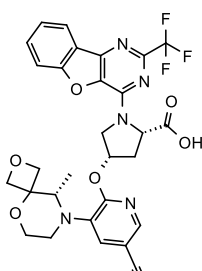
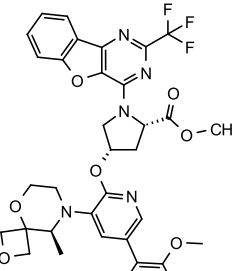
Esta explicación, junto con las mediciones que se muestran en la Tabla 4,

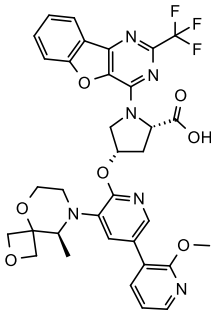
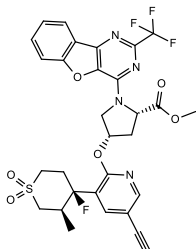
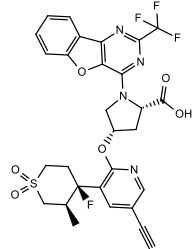
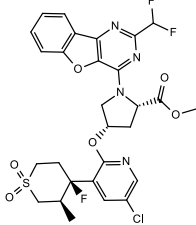
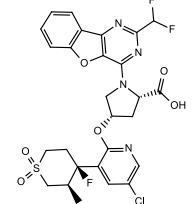
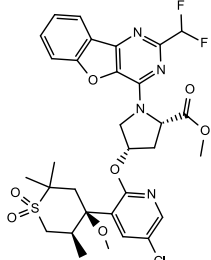
implica que los derivados de éster de carboximetilo de los compuestos de ejemplo de PCT/EP2022/062480 y de PCT/EP2022/062496 realmente parecen representar profármacos viables del respectivo compuesto de ejemplo con el grupo de ácido carboxílico libre (que, en sí mismos, no tienen potencia inhibidora con respecto a la inhibición bioquímica *in vitro* del cGAS humano). Sin embargo, tras la escisión del éster de carboximetilo mediante las enzimas intracelulares endógenas presentes en los ensayos celulares, se reestablecen los "compuestos de ejemplo activos", que vuelven a exhibir una potencia inhibidora en relación con la vía cGAS/STING.

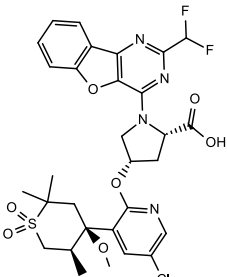
Dado que los compuestos de ejemplo de la Fórmula I, II o III de la presente invención tienen el mismo ácido carboxílico libre unido a la porción de pirrolidinilo que los compuestos de ejemplo de PCT/EP2022/062480 o de PCT/EP2022/062496, se puede esperar que los derivados de ésteres de carboximetilo de estos compuestos de la Fórmula I, II o III también actúen como profármacos.

Tabla 4: Comparación entre compuestos inhibidores de cGAS seleccionados tal como se divulgan en PCT/EP2022/062480 y PCT/EP2022/062496 y sus respectivos profármacos de metiléster:

N.º de ejemplo/ N.º de profármaco	Estructura	hcGAS IC ₅₀ [nM]	THP1 _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP1 _(cG AMP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]
P01 de PCT/EP2022/06 2480) (Profármaco del ej. 4.04 de PCT/EP 2022/062480)		>9956	358	26058	1313
Ej. 4.04 de PCT/EP2022/06 2480)		2	386	>16611	77

P02 de PCT/EP2022/06 2480) (Profármaco del ej. 1.10 de PCT/ EP2022/062480)		>9952	444	17109	5327
Ej. 1.10 de PCT/EP2022/06 2480)		5	91	16130	33
P03 de PCT/EP2022/06 2480) (Profármaco del ej. 1.12 de PCT/ EP2022/062480)		9617	188	22845	1088
Ej. 1.12 de PCT/EP2022/06 2480)		3	7	11892	15
P04 de PCT/EP2022/06 2480) (Profármaco del ej. 3.14 de PCT/ EP2022/062480)		>9954	67	>16621	2747

Ej. 3.14 de PCT/EP2022/06 2480)		11	10	7832	26
P01 de PCT/EP2022/06 2496) (Profármaco del ej. 2.12 de PCT/EP2022/062496)		19147	11	>16612	67
Ej. 2.12 de PCT/EP2022/062496		3	8	21781	8
P02 de PCT/EP2022/062496) (profármaco del ej. 1.13 de PCT/EP2022/062496		>9954	29	>16620	140
Ej. 1.13 de PCT/EP2022/062496		2	6	22502	6
P03 de PCT/EP2022/062496) (profármaco del ej. 1.05 de PCT/EP2022/062496		7253	202	20592	1994

Ej. 1.05 de PCT/ EP2022/062496		2	44	13188	135
-----------------------------------	---	---	----	-------	-----

5. EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS

La actividad de los compuestos de la invención se puede demostrar mediante los siguientes ensayos de células y enzimas de cGAS *in vitro*:

6.1 Método: ensayo enzimático de cGAS humano (hcGAS IC₅₀ (*in vitro*))

Se incubó la enzima de cGAS humana en presencia de un par de base 45 de ADN bicatenario para activar la enzima y GTP y ATP como sustratos. Se determinó la actividad del compuesto mediante la medición del efecto de compuestos en la formación del producto de reacción enzimática, cGAMP, que se mide mediante el método de espectrometría de masas.

Preparación de la enzima:

El cGAS humano (aminoácido 1-522) con una etiqueta 6x-His del terminal N y una etiqueta SUMO se expresó en células *E. coli* BL21(DE3) pLysS (Novagen) durante 16 horas a 18 °C. Las células se lisaron en amortiguador que contenía 25 mM de Tris (pH 8), 300 mM de NaCl, 10 mM de imidazol, 10 % de glicerol, cóctel inhibidor de proteasa (cOmplete™, sin EDTA, Roche) y DNasa (5 µg/ml). La proteína cGAS se aisló por cromatografía de afinidad en resina de agarosa Ni-NTA y se purificó adicionalmente mediante cromatografía de exclusión de tamaño mediante el uso de una columna Superdex 200 (GE Healthcare) equilibrada en 20 mM de Tris (pH 7,5), 500 mM de KCl y 1 mM de TCEP. Se concentró la proteína purificada a 1,7 mg/ml y se almacenó a -80 °C.

Método de ensayo

Los compuestos se suministraron en una solución de 10 mM de DMSO, se diluyeron en serie y se transfirieron a la placa de ensayo de 384 cavidades (Greiner #781201) mediante el uso de un dispensador acústico Echo. Típicamente, se utilizaron 8 concentraciones con la concentración más alta a 10 µM en el volumen final del ensayo, seguido de las etapas de dilución ~1:5. Se estableció la concentración de DMSO a 1 % en el volumen final del ensayo. La placa de ensayo de 384 cavidades contenía 22 compuestos de prueba (columna 1-22), y DMSO en las columnas 23 y 24.

Después de la transferencia del compuesto, se agregaron 15 µl de la solución de trabajo enzima-ADN (12 nM de cGAS, 0,32 µM de ADN de par de base 45 en amortiguador de ensayo, 10 mM de Tris pH 7,5/10 mM de KCl/5 mM de MgCl₂/1 mM de DTT) a cada cavidad de la columna 1-23 a través de un dispensador MultiDrop Combi. En la columna 24, se agregaron 15 µl de amortiguador de ensayo sin enzima/ADN como control bajo.

Las placas se preincubaron durante 60 min a temperatura ambiente.

A continuación, se agregaron 10 µl de mezcla de GTP (ThermoFisher #R0461)-ATP (Promega #V915B) en amortiguador de ensayo a la placa de ensayo (columnas 1-24, 30 µM de concentración final cada una) mediante el uso de un Multidrop Combi.

Las placas se incubaron nuevamente durante 90 min a temperatura ambiente.

Después de la incubación, la reacción se detuvo con 80 µl de ácido fórmico al 0,1 % en amortiguador de ensayo que contenía 5 nM de di-GMP cíclico (Sigma #SML1228) utilizado como estándar interno para la espectrometría de masas. El volumen total/cavidad de 105 µl.

Detección con Rapidfire MS

Las placas se centrifugaron a 4000 rpm, 4 °C, durante 5 min.

Se acopló el automuestreador RapidFire a una bomba binaria (Agilent 1290) y un Triple Quad 6500 (ABSciex, Toronto, Canadá). Este sistema estaba equipado con un bucle de 10 µL, cartucho C18 [12 µl de volumen de lecho] (Agilent, N.º de parte G9210A) que contenía 10 mM de NH₄Ac (ac.), agua (pH 7,4) como eluyente A (bomba 1 a 1,5 ml/min, bomba 2 a 1,25 ml/min) y 10 mM de NH₄Ac en v/v/v 47,5/47,5/5 de ACN/MeOH/H₂O (pH 7,4) como eluyente B (bomba 3 a 1,25 ml/min). Tiempo de aspiración: 250 ms; tiempo de carga: 3000 ms; tiempo de elución: 3000 ms; volumen de lavado: 500 µl.

La MS se operó en modo de iones positivos con fuente de iones HESI, con una temperatura de fuente de 550 °C, gas cortina = 35, gas 1 = 65 y gas 2 = 80. Resolución de masa unitaria en modo SRM. Se determinaron las siguientes transiciones y parámetros de MS (DP: potencial de desagrupación y CE: energía de colisión) para cGAMP y DicGMP:

Analito: cGAMP a 675,1/524, DP = 130, CE = 30 y

Estándar interno: di-GMP cíclico a 690,1/540, DP = 130, CE = 30.

La formación de cGAMP se supervisó y se evaluó como relación con di-GMP cíclico.

Evaluación y cálculo de datos:

Para la evaluación y el cálculo de los datos, la medición del control bajo se estableció como control 0 % y la medición del control alto se estableció como control 100 %. Los valores IC_{50} se calcularon mediante la fórmula estándar de regresión logística de 4 parámetros. Cálculo: $[y=(a-d)/(1+(x/c)^b)+d]$, a = valor bajo, d = valor alto; x = conc M; c= IC_{50} M; b = pendiente

6.2 Método: ensayo de células humanas cGAS y ensayo de recuento de células estimuladas por cGAMP (THP1_(vir) IC_{50} y THP1_(cGAMP) IC_{50})

Las células THP1-Dual™ (InvivoGen #thpd-nfis) que expresan el indicador de luciferasa Lucia dependiente del IRF se utilizaron como base para ambos ensayos. Para la detección de la actividad celular de cGAS, se estimularon las células con una infección de baculovirus (pFastbac-1, Invitrogen, sin inserto codificador) que proporciona la enzima cGAS mediante la estimulación del ADN bicatenario (medición de IC_{50} de THP1_(vir)).

Para el contraensayo, las células se estimularon con cGAMP (SigmaAldrich #SML1232) para activar la vía idéntica independiente y directamente corriente abajo de cGAS (medición de IC_{50} de THP1_(cGAMP)).

La actividad de la vía se supervisó al medir la actividad de la luciferasa Lucia inducida por la actividad de la enzima cGAS estimulada por el ADN (medición de IC_{50} de THP1_(vir)) o por el cGAMP directamente (medición de IC_{50} de THP1_(cGAMP), contraensayo).

Método de ensayo

Los compuestos se suministraron en una solución de 10 mM de DMSO, se diluyeron en serie y se transfirieron a la placa de ensayo de 384 cavidades (Greiner #781201) mediante el uso de un dispensador acústico Echo. Típicamente, se utilizaron 8 concentraciones con la concentración más alta a 10 μ M en el volumen final del ensayo, seguido de las etapas de dilución ~1:5. Se estableció la concentración de DMSO a 1 % en el volumen final del ensayo. La placa de ensayo de 384 cavidades contenía 21 compuestos de prueba (columna 1-22), y DMSO en las columnas 23 y 24.

Las células, cultivadas de acuerdo con las condiciones del fabricante, se cosecharon mediante centrifugación a 300 g/10 min y se resuspendieron y diluyeron a 1,66 E5 células/ml en medio de cultivo celular fresco (RPMI 1640 (Gibco #A10491-01), 10 % FCS (Gibco #10500), 1x GlutaMax (Gibco #35050-061), 1x solución Pen/Strep (Gibco #15140-122), 100 μ g/ml Normocin (InvivoGen #ant-nr), 100 μ g/ml Zeocin (InvivoGen #ant-zn), 10 μ g/ml Blastidin S (Life Technologies #A11139-03)). A continuación se añadió la solución de baculovirus 1:200 (han variado de acuerdo con

el lote de virus) a las células (medición de IC_{50} de THP1_(vir)). Alternativamente, para el contraensayo se agregó cGAMP a las células a una concentración final de 10 μ M (medición de IC_{50} de THP1_(cGAMP)).

Se añadieron 30 μ l de la mezcla de células/virus a cada cavidad de la placa compuesta de la columna 1-23 a través del dispensador MultiDrop Combi (5000 células/cavidad). En la columna 24, se agregaron 30 μ l/5000 células/cavidad sin virus como control bajo.

Luego las placas se incubaron durante 18 horas a 37 °C en una incubadora humidificada.

A continuación, se agregaron 15 μ l de reactivo de detección QuantiLuc (InvivoGen #rep-qlcg5) a cada cavidad mediante el uso de un MultiDrop Combi. La medición se realizó inmediatamente después de la adición mediante un lector EnVision (modo de lectura de luminiscencia US).

Evaluación y cálculo de datos:

Para la evaluación y el cálculo de los datos, la medición del control bajo se estableció como control 0 % y la medición del control alto se estableció como control 100 %. Los valores IC_{50} se calcularon mediante la fórmula estándar de regresión logística de 4 parámetros. Cálculo: $[y=(a-d)/(1+(x/c)^b)+d]$, a = valor bajo, d = valor alto; x = conc M; c= IC_{50} M; b = pendiente

6.3 Método: ensayo de sangre humana completa (WB humana IC_{50})

Para la detección de la actividad celular del cGAS, se estimuló la sangre humana completa mediante transfección con ADN bicatenario. La actividad de la vía se supervisó al medir la producción de IFN α 2 α .

Método de ensayo

Los compuestos se suministraron como solución de 10 mM de DMSO, y se diluyeron en serie y se transfirieron a la placa de cultivo celular de 96 cavidades (Corning #3595), precargada con 20 μ l de OptiMEM (Gibco, #11058-021) en cada cavidad, mediante el uso de un dispensador acústico Echo. Típicamente, se utilizaron 8 concentraciones con la concentración más alta a 10 μ M en el volumen final del ensayo, seguido de las etapas de dilución ~1:5. Se estableció la concentración de DMSO a 0,1% en el volumen final del ensayo. La placa de ensayo de 96 cavidades contenía 10 compuestos de prueba y DMSO en las cavidades de control.

En paralelo, se realizó la recolección de sangre humana completa de 3 o más donantes sanos (hombres o mujeres, sin medicación durante 7 días, excepto anticonceptivos y tiroxina) como sangre con citrato Na (por ejemplo, 3,8 % en

Monovettes de Sarstedt). La sangre completa se mantuvo a temperatura ambiente durante un máximo de 3 horas después de la recolección hasta su uso en el ensayo.

Se transfirieron 160 µl de las muestras de sangre completa a cada cavidad de las placas de ensayo de 96 cavidades llenas con compuesto/OptiMEM. Todas las placas de ensayo se prepararon por duplicado con sangre de diferentes donantes. Las placas de sangre se mantuvieron a temperatura ambiente durante 60 minutos y se agitaron continuamente a 450 rpm, cubiertas con la tapa, pero no selladas.

Se preparó la mezcla de ADN-Fugene (ADN de arenque, Sigma Aldrich #D6898-1G, Fugene (5x 1 ml), Promega # E2312) en OptiMEM y se incubó durante 10 min a RT (125 ng de ADN/20 µl y relación de Fugene 9,6:1). Se agregaron 20 µl de la mezcla de ADN Fugene a cada cavidad, lo que dio como resultado 125 ng de ADN/cavidad/200 µl, y una relación de Fugene de 9,6:1. Se agregaron 20 µl de OptiMEM y 9,6:1 de Fugene a todas las cavidades de control bajo.

Después de cubrir las placas de ensayo con Aera-Seal y la tapa, las placas de sangre se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos y se agitaron continuamente a 450 rpm, seguidas de una incubación durante la noche durante 22 h a 37 °C en la incubadora, sin agitación.

Para la detección de IFN α -2 α en plasma humano, el anticuerpo de captura biotinilado (conjunto de anticuerpos IFNA2, Meso Scale Diagnostics #B21VH-3, que incluye el recubrimiento y el anticuerpo de captura) se diluyó 1:17,5 en Diluyente 100 (Meso Scale Diagnostics #R50AA-4), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas U-Plex MSD GOLD de 96 cavidades Small Spot Streptavidin SECTOR (Meso Scale Diagnostics # L45SA-5) se recubrieron con 25 µl de anticuerpo de captura diluido. Las placas se incubaron durante 60 min a temperatura ambiente en agitación continua a 700 rpm. Las placas MSD IFN α -2 α se lavaron tres veces con 150 µl de amortiguador de lavado (1x HBSS, 0,05 % Tween).

Después de bloquear las placas con 100 µl de solución de bloqueo/cavidad (1x HBSS con 0,2 % de Tween, 2 % de BSA) durante 60 minutos a temperatura ambiente y con agitación continua a 700 rpm, las placas se vaciaron hasta quedar lo más secas posible mediante vertimiento justo antes de continuar con el plasma humano.

Las placas de sangre completa se centrifugaron a 1600 rpm durante 10 minutos. Se transfirieron 25 µl de sobrenadante con un robot de pipeteo desde cada placa de sangre completa a la placa de IFN α -2 α correspondiente. Las placas se cerraron con sellos para microplacas y se mantuvieron de nuevo a temperatura ambiente bajo agitación continua a 700 rpm durante dos horas.

A continuación, las placas MSD IFN α -2 α se lavaron tres veces con 150 μ l de amortiguador de lavado (1x HBSS, 0,05 % de Tween), antes de agregar 25 μ l de solución de anticuerpo MSD SULFO-TAG IFN α -2 α (1:100 diluido en Diluyente 3 (Meso Scale Diagnostics # R50AP-2) a cada cavidad de las placas.

Después, las placas se sellaron con sellos para microplacas y se mantuvieron de nuevo a temperatura ambiente bajo agitación continua a 700 rpm durante dos horas. Finalmente, las placas MSD IFN α -2 α se lavaron tres veces con 150 μ l de amortiguador de lavado (1x HBSS, 0,05 % de Tween). Se agregaron 150 μ l 2x de amortiguador de lectura a cada cavidad y las placas se midieron inmediatamente con el lector MSD Sector S600 mediante el uso del código de barras del proveedor.

Evaluación y cálculo de datos:

Para la evaluación y el cálculo de los datos, el cálculo del % de control de cada cavidad se basó en la media de los controles altos (control estimulado con ADN) y la media de los controles bajos (control no estimulado) mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{recuentos(muestra)} - \text{recuentos(baja)}] / [\text{recuentos(alta)} - \text{recuentos(baja)}] * 100$$

Los valores IC₅₀ se calcularon mediante la fórmula estándar de regresión logística de 4 parámetros. Cálculo: $[y = (a - d) / (1 + (x/c)^b) + d]$, a = valor bajo, d = valor alto; x = conc M; c = IC₅₀ M; b = pendiente

6. INDICACIONES

Como se descubrió, los compuestos de la Fórmula I, II o III se caracterizan por sus rangos de aplicaciones en el campo terapéutico. Cabe mencionar en particular las aplicaciones para las que los compuestos de la Fórmula I, II o III de acuerdo con la invención se utilizan preferentemente sobre la base de su actividad farmacéutica como inhibidores de cGAS. Si bien la vía de cGAS es importante para la defensa del huésped contra los patógenos invasores, tal como una infección viral y la invasión de algunas bacterias intracelulares, el estrés celular y los factores genéticos también pueden causar la producción de dsADN celular aberrante, por ejemplo, por fuga nuclear o mitocondrial y, por lo tanto, desencadenar respuestas autoinflamatorias. En consecuencia, los inhibidores de cGAS tienen un gran potencial terapéutico para ser utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades autoinflamatorias y autoinmunitarias.

An *et al.*, Arthritis Rheumatol. Abril de 2017;69(4):800-807, divulgó que la expresión de cGAS en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) era significativamente más alta en pacientes con la enfermedad autoinmunitaria de lupus eritematoso sistémico (SLE) que en controles normales. La medición dirigida de

cGAMP por espectrometría de masas en tándem detectó cGAMP en el 15 % de los pacientes con SLE analizados, pero en ninguno de los controles normales o con artritis reumatoide. La actividad de la enfermedad fue mayor en los pacientes con SLE con cGAMP en comparación con los que no tenían cGAMP. Mientras que una mayor expresión de cGAS puede ser consecuencia de la exposición al interferón (IFN) de tipo I, la detección de cGAMP en pacientes con SLE con una mayor actividad de la enfermedad indica una posible implicación de la vía de cGAS en la expresión de la enfermedad.

Park *et al.*, Ann Rheum Dis. Octubre de 2018;77(10):1507-1515, también divulga la implicación de la vía de cGAS en el desarrollo de SLE.

Thim-Uam *et al.*, iScience 4 de septiembre de 2020;23(9), 101530 (doi: 10.1016/j.isci.2020.101530), divulga que la vía de STING media el lupus a través de la activación de la maduración de las células dendríticas convencionales y la diferenciación de las células dendríticas plasmocitoides.

Gao *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 20 de octubre de 2015;112(42):E5699-705, describe que la activación de cGAS mediante ADN propio provoca ciertas enfermedades autoinmunitarias tal como interferonopatías.

Tonduti *et al.*, Expert Rev. Clin. Immunol. Febrero de 2020;16(2):189-198 divulga que los inhibidores de cGAS tienen un potencial terapéutico particular en el síndrome de Aicardi-Goutières, y el lupus chilblain familiar, que son trastornos inmunitarios graves similares al lupus.

Steiner *et al.*, Nat Commun. 28 de abril de 2022;13(1):232; doi: 10.1038, muestra que la deficiencia en el complejo I de coatómero causa una activación aberrante de la señalización STING y el síndrome de COPA, y que se requiere cGAS para impulsar la señalización IFN tipo I en un modelo celular del síndrome de COPA.

Li *et al.* demuestran que las vesículas extracelulares que contienen ADN derivado del plasma inducen respuestas proinflamatorias mediadas por STING en la dermatomiositis (Theranostics. 2021; 11(15): 7144–7158). Zhou *et al.* (J Clin Lab Anal. Octubre de 2022; 36(10): e24631) describe una correlación entre la activación de la vía cGAS-STING y la atrofia/necrosis de las miofibras en la dermatomiositis.

En Yu *et al.*, Cell. 29 de octubre de 2020;183(3):636-649, se describe el vínculo entre el ADN mitocondrial desencadenado por TDP-43 y la activación de la vía cGAS/STING en la esclerosis lateral amiotrófica (ALS).

Ryu *et al.*, Arthritis Rheumatol. Noviembre de 2020;72(11):1905-1915, también muestra que el ADN mitocondrial plasmático bioactivo se asocia con la progresión de

la enfermedad en enfermedades fibrosantes específicas como la esclerosis sistémica (SSc) o las enfermedades pulmonares intersticiales (ILD), las enfermedades pulmonares intersticiales fibrosantes progresivas (PF-ILD) y la fibrosis pulmonar idiopática (IPF).

En Schuliga *et al.*, Clin. Sci. (Lond). 17 de abril de 2020;134(7):889-905, se describe que el auto-ADN perpetúa la senescencia de los fibroblastos pulmonares de la IPF de forma dependiente de cGAS.

Otros indicios científicos que vinculan la causa de otras enfermedades fibrosantes como la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) con la vía cGAS/STING se han descrito en Yu *et al.*, J. Clin. Invest. 1 de febrero de 2019;129(2):546-555, y en Cho *et al.*, Hepatology. Octubre de 2018;68(4): 1331-1346.

Nascimento *et al.*, Sci. Rep. 16 de octubre de 2019;9(1):14848, divulga que la liberación de auto-ADN y la detección dependiente de STING impulsan la inflamación debida al humo del cigarrillo en ratones, lo que sugiere un vínculo entre la vía cGAS-STING y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD).

Ma *et al.*, Sci. Adv. 20 de mayo de 2020;6(21):eaaz6717, divulga que la colitis ulcerosa y la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) pueden restringirse al controlar la inflamación mediada por cGAS.

Gratia *et al.*, J. Exp. Med. 6 de mayo de 2019;216(5):1199-1213, muestra que la proteína del síndrome de Bloom restringe la detección inmunitaria innata de micronúcleos por parte de cGAS. En consecuencia, los inhibidores de cGAS tienen un potencial terapéutico en el tratamiento del síndrome de Bloom.

Kerur *et al.*, Nat. Med. Enero de 2018;24(1):50-61, describe que cGAS desempeña un papel importante en la activación del inflammasoma no canónico en la degeneración macular relacionada con la edad (AMD).

Visitchanakun *et al.*, Int J Mol Sci. 23 de octubre de 2021;22(21):11450, muestra que los ratones deficientes en GAS mostraron menor gravedad que los ratones de tipo silvestre en los modelos de sepsis por ligadura y punción cecal (CLP) y por inyección de lipopolisacárido (LPS).

Wang *et al.*, Mediators Inflamm. 2015;2015:192329, describe que el cGAS es necesario para la proliferación celular y la producción de citocinas inflamatorias en sinoviocitos de artritis reumatoide. También se informó que, en un modelo de ratón con artritis inflamatoria, la deficiencia de cGAS suprimió las respuestas al interferón, la infiltración de células inflamatorias y la hinchazón articular (Willemsen *et al.*, Cell Rep. 9 de noviembre de 2021;37(6):109977).

Guo *et al.*, Osteoarthritis Cartilage. Agosto de 2021; 29(8):1213-1224, describieron que el ADN dañado es un factor patológico clave de la osteoartritis (OA) y que es probable que esté mediado por la vía cGAS/STING, ya que la supresión de STING alivió la desestabilización del menisco medial inducida por el desarrollo de OA en ratones.

Mao *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol (2017) 37(5):920–929, muestra que la vía de cGAS/STING media en la inflamación endotelial en respuesta al daño mitocondrial inducido por los ácidos grasos libres en la obesidad inducida por la dieta, lo que indica que los inhibidores de cGAS también tienen potencial en el tratamiento de la obesidad y la diabetes..

Kerur *et al.*, Nat Med. Enero de 2018;24(1):50-61, describe que los niveles de cGAS eran elevados en el epitelio pigmentado de la retina en ojos humanos con atrofia geográfica, y que el cGAS impulsa la activación del inflamasoma no canónico en la degeneración macular asociada a la edad.

cGAS promueve la senescencia celular y el fenotipo secretor asociado a la senescencia (Yang *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA. 6 de junio de 2017;114:E4612-E4620). La cromatina citoplasmática desencadena la inflamación en la senescencia a través de cGAS/STING, y los ratones nulos en STING presentan una menor inflamación tisular y envejecimiento (Dou *et al.*, Nature. 2017 550: 402–406). Además, en los seres humanos, una variación del gen STING se asocia a un envejecimiento saludable, probablemente debido a una disminución de la inflamación (Hamann *et al.*, Gerontology 2019;65:145–154). En conjunto, un inhibidor de STING reducirá la inflamación asociada a la senescencia y la acumulación de células senescentes y conducirá a la mejora de enfermedades asociadas a la senescencia, tales como el envejecimiento, los trastornos musculares y la fibrosis.

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III también tienen un potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer (ver Hoong *et al.*, Oncotarget. 28 de julio de 2020;11(30):2930-2955, y Chen *et al.*, Sci. Adv. 14 de octubre de 2020;6(42):eabb8941).

Adicionalmente, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen también un potencial terapéutico en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca (Hu *et al.*, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 1 de junio de 2020;318(6):H1525-H1537).

Otros indicios científicos apuntan a una correlación entre la enfermedad de Parkinson y la vía cGAS/STING (Sliter *et al.*, Nature. Septiembre de 2018;561(7722):258-262) y entre el Síndrome de Sjögren y la vía cGAS/STING

(Papinska *et al.*, J. Dent. Res. Julio de 2018;97(8):893-900) exist.

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen también un potencial terapéutico en el tratamiento de las infecciones por COVID-19/SARS-CoV-2, como se muestra en Di Domizio *et al.* Nature 19 de enero de 2022. doi: 10.1038/s41586-022-04421-w: "The cGAS-STING pathway drives type I IFN immunopathology in COVID-19", y en Neufeldt *et al.*, Commun Biol. 12 de enero de 2022;5(1):45. doi: 10.1038/s42003-021-02983-5: "SARS-CoV-2 infection induces a pro-inflammatory cytokine response through cGAS-STING and NF-kappaB".

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen un potencial terapéutico en el tratamiento de la inflamación renal y la fibrosis renal, como se muestra en Chung *et al.*, Cell Metab. 2019 30:784-799: "Mitochondrial Damage and Activation of the STING Pathway Lead to Renal Inflammation and Fibrosis", y en Maekawa *et al.*, Cell Rep. 2019 29:1261-1273: "Mitochondrial Damage Causes Inflammation via cGAS-STING Signaling in Acute Kidney Injury".

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer, como se muestra en Bakhoun *et al.*, Nature. 25 de enero de 2018;553(7689):467-472: "Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response", y en Liu *et al.*, Nature. Noviembre de 2018;563(7729):131-136: "Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis".

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen un potencial terapéutico en el tratamiento del dismetabolismo, ya que los animales STING^{gt} muestran una menor infiltración de macrófagos en el tejido adiposo tras una ingesta calórica elevada (HFD) subcrónica, y la deficiencia de STING^{gt} e IRF3 conduce a una disminución de la glucosa y la insulina en sangre y a una reducción del peso corporal (Mao *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017;37 (5): 920-929).

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen un potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades vasculares y conducen a la reparación/regeneración vascular, porque la liberación de ADN mitocondrial en el citosol de las células endoteliales causa la activación de la vía cGAS/STING y la supresión de la proliferación endotelial. Además, la inactivación del gen cGAS restaura la reparación/regeneración endotelial en un modelo de ratón de lesión pulmonar inflamatoria (Huang *et al.*, Immunity, 2020, Mar 2017; 52 (3): 475-486.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.02.002).

Además, los inhibidores de cGAS de la Fórmula I, II o III tienen un potencial

terapéutico en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares relacionadas con la edad y la obesidad (Hamann *et al.*, Immun Ageing, 14 de marzo de 2020; 17: 7; doi: 10.1186/s12979-020-00176-y.eCollection 2020).

En consecuencia, los compuestos de la Fórmula I, II o III como inhibidores de cGAS se pueden usar en el tratamiento de enfermedades autoinflamatorias y autoinmunes tales como lupus sistémico eritematoso (SLE), interferonopatías, síndrome de Aicardi-Goutières(AGS), síndrome de COPA, lupus chilblain familiar, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de Bloom, síndrome de Sjögren, artritis reumatoide y enfermedad de Parkinson.

Además, los compuestos de la Fórmula I, II o III como inhibidores de cGAS se pueden usar en el tratamiento de una enfermedad fibrosante tal como esclerosis sistémica (SSc), interferonopatías, hepatitis esteatósica no alcohólica (NASH), enfermedad pulmonar intersticial (ILD), preferentemente enfermedad pulmonar intersticial fibrosante progresiva (PF-ILD), en particular fibrosis pulmonar idiopática (IPF).

Además, los compuestos de la Fórmula I, II o III como inhibidores de cGAS se pueden usar en el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinopatía, glaucoma, diabetes, obesidad, envejecimiento, trastornos musculares, sepsis, osteoartritis, insuficiencia cardíaca, infección por COVID-19/SARS-CoV-2, inflamación renal, fibrosis renal, dismetabolismo, enfermedades vasculares, enfermedades cardiovasculares y cáncer.

7. COMBINACIONES

Los compuestos de la Fórmula I, II o III se pueden administrar al paciente solos o en combinación con uno o más agentes farmacológicamente activos adicionales.

En una forma de realización preferida de la invención, los compuestos de la Fórmula I, II o III pueden combinarse con uno o más agentes farmacológicamente activos seleccionados del grupo que consiste en agentes antiinflamatorios, agentes antifibróticos, agentes antialérgicos, broncodilatadores, agonistas beta 2/betamiméticos, agonistas adrenérgicos, agentes anticolinérgicos, metotrexato, micofenolato mofetilo, moduladores de leucotrienos, inhibidores de JAK, anticuerpos antiinterleucina, inmunoterapéuticos no específicos como interferones u otras citocinas/quimiocinas, moduladores de los receptores de citocinas/quimiocinas (es decir, antagonistas o agonistas de receptores de citocinas), agonistas de receptores

tipo toll (= agonistas de TLR), reguladores de puntos de control inmunitarios, anticuerpos anti-TNF (Humira™) y agentes anti-BAFF (Belimumab y Etanercept).

Los agentes antifibróticos se seleccionan preferentemente entre la Pirfenidona y los inhibidores de la tirosina quinasa, como el Nintedanib, en donde se prefiere en particular el Nintedanib.

Los ejemplos preferidos de agentes antiinflamatorios son los NSAID y los corticosteroides.

Los NSAID se seleccionan preferentemente de ibuprofeno, naproxeno, diclofenac, meloxicam, celecoxib, ácido acetilsalicílico (Aspirin™), indometacina, ácido mefenámico y etoricoxib.

Los corticosteroides se seleccionan preferentemente de Flunisolida, Beclometasona, Triamcinolona, Budesonida, Fluticasona, Mometasona, Ciclesonida, Rofleponida y Dexametasona.

Los agentes antialérgicos /antihistamínicos se seleccionan preferentemente de Epinastina, Cetirizina, Azelastina, Fexofenadina, Levocabastina, Loratadina, Ebastina, Desloratidina y Mizolastina.

Los agonistas beta 2 /betamiméticos pueden ser agonistas beta 2 de acción prolongada (LABA) o agonistas beta de acción corta (SABA). Los agonistas beta 2 /betamiméticos particularmente preferidos se seleccionan entre Bambuterol, Bitolterol, Carbuterol, Clenbuterol, Fenoterol, Formoterol, Hexoprenalina, Ibuterol, Pirbuterol, Procaterol, Reproterol, Salmeterol, Sulfonterol, Terbutalina, Tolubuterol, Olodaterol y Salbutamol, en particular Olodaterol.

Los agentes anticolinérgicos se seleccionan preferentemente entre las sales de ipratropio, sales de tiotropio, sales de glicopirronio y teofilina, en donde se prefiere en particular bromuro de tiotropio.

Los moduladores de leucotrienos se seleccionan preferentemente entre Montelukast, Pranlukast, Zafirlukast, Ibudilast y Zileuton.

Los inhibidores de JAK se seleccionan preferentemente entre Baricitinib, Cerdulatinib, Fedratinib, Filgotinib, Gandotinib, Lestaurtinib, Momelotinib, Pacritinib, Peficitinib, Ruxolitinib, Tofacitinib y Upadacitinib.

Los anticuerpos anti-interleucina se seleccionan preferentemente del grupo que consiste en anticuerpos anti-IL23 tales como Risankizumab, anticuerpos anti-IL17, anticuerpos anti-IL1, anticuerpos anti-IL4, anticuerpos anti-IL13, anticuerpos anti-IL-5, anticuerpos anti-IL-6 tales como Actemra™, anticuerpos anti-IL-12 y anticuerpos anti-IL-15.

8. **FORMULACIONES**

Los compuestos de la invención se pueden administrar mediante cualquier vía de administración adecuada, incluidas la administración sistémica y la administración tópica. La administración sistémica incluye administración oral, administración parenteral, administración transdérmica, administración rectal y administración por inhalación. La administración parenteral se refiere a las vías de administración distintas de la enteral, transdérmica o por inhalación, y suele ser por inyección o infusión. La administración parenteral incluye la inyección o infusión intravenosa, intramuscular, intraesternal y subcutánea. La inhalación se refiere a la administración en los pulmones del paciente, ya sea a través de la boca o a través de las fosas nasales. La administración tópica incluye la aplicación en la piel. Los compuestos de la invención se pueden administrar a través de gotas oftálmicas para el tratamiento del síndrome de Sjörger.

Las formas de administración adecuadas son, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, soluciones, jarabes, emulsiones o polvos o aerosoles inhalables. El contenido de los compuestos farmacéuticamente activos en cada caso debe estar en un rango de 0,1 a 90 % en peso, preferentemente de 0,5 a 50 % en peso del total de la composición, por ejemplo, en cantidades que sean suficientes para lograr el rango de dosis especificado más adelante.

Los preparados pueden administrarse por vía oral en forma de comprimido, como polvo, como polvo en una cápsula (por ejemplo, una cápsula de gelatina dura), como solución o suspensión. Cuando se administra por inhalación, la combinación de sustancias activas puede darse en forma de polvo, como solución acuosa o acuosa-etanólica o utilizando una formulación de gas propulsor.

Por lo tanto, preferentemente, las formulaciones farmacéuticas se caracterizan por el contenido de uno o más compuestos de la Fórmula I, II o III de acuerdo con las formas de realización preferidas anteriores.

Es particularmente preferible que los compuestos de la Fórmula I, II o III se administren por vía oral, y también es particularmente preferible que se administren una o dos veces al día. Los comprimidos adecuados se pueden obtener, por ejemplo, al mezclar las sustancias activas con excipientes conocidos, por ejemplo, diluyentes inertes tales como carbonato de calcio, fosfato de calcio o lactosa, desintegrantes tales como almidón de maíz o ácido alginico, aglutinantes tales como almidón o gelatina, lubricantes tales como estearato de magnesio o talco y/o agentes para retardar la liberación, tales como carboximetilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa o acetato de

polivinilo. Los comprimidos también pueden comprender varias capas.

En consecuencia, los comprimidos recubiertos se pueden preparar al recubrir núcleos producidos de forma análoga a los comprimidos con sustancias que se utilizan normalmente para el recubrimiento de comprimidos, por ejemplo, colidona o goma laca, goma arábiga, talco, dióxido de titanio o azúcar. Para lograr la liberación retardada o prevenir incompatibilidades, el núcleo también puede consistir en varias capas. De forma similar, el recubrimiento puede consistir en varias capas para lograr la liberación retardada, posiblemente al utilizar los excipientes mencionados anteriormente para los comprimidos.

Los jarabes que contengan sustancias activas o combinaciones de estas de acuerdo con la invención pueden contener adicionalmente un endulzante, tal como sacarina, ciclamato, glicerol o azúcar, y un potenciador del sabor, por ejemplo, un saborizante tal como vainillina o extracto de naranja. También pueden contener adyuvantes de suspensión o espesantes tales como carboximetilcelulosa de sodio, agentes humectantes tales como, por ejemplo, productos de condensación de alcoholes grasos con óxido de etileno, o conservantes tales como p-hidroxibenzoatos.

Las cápsulas que contienen una o más sustancias activas o combinaciones de sustancias activas pueden prepararse, por ejemplo, al mezclar las sustancias activas con portadores inertes tales como lactosa o sorbitol y empaquetarlos en cápsulas de gelatina. Los supositorios adecuados pueden elaborarse, por ejemplo, al mezclar con portadores proporcionados para este fin, tales como grasas neutras o polietilenglicol o derivados de estos.

Los excipientes que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, agua, solventes orgánicos aceptables desde el punto de vista farmacéutico tales como parafinas (por ejemplo, fracciones de petróleo), aceites vegetales (por ejemplo, aceite de sésamo o de maní), alcoholes mono o polifuncionales (por ejemplo, etanol o glicerol), portadores tales como, por ejemplo, polvos minerales naturales (por ejemplo, caolín, arcilla, talco, tiza), polvos minerales sintéticos (por ejemplo, ácido silícico y silicatos altamente dispersos), azúcares (por ejemplo, azúcar de caña, lactosa y glucosa), emulgentes (por ejemplo, lignina, licores de sulfito agotados, metilcelulosa, almidón y polivinilpirrolidona) y lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, ácido esteárico y laurilsulfato de sodio).

Para la administración oral los comprimidos pueden contener, por supuesto, además de los portadores mencionados anteriormente, aditivos tales como citrato de sodio, carbonato de calcio y fosfato de dicalcio en conjunto con varios aditivos tales

como almidón, preferentemente almidón de papa, gelatina y similares. Además, se pueden usar lubricantes tales como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco al mismo tiempo para el proceso de elaboración de comprimidos. En el caso de suspensiones acuosas, las sustancias activas pueden combinarse con diversos potenciadores de sabor o colorantes además de los excipientes mencionados anteriormente.