(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 363 807**

(51) Int. Cl.:
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **07704895 .7**
(96) Fecha de presentación : **11.01.2007**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1981876**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **22.10.2008**

(54) Título: **Derivados de triazoloanilinopirimidina para uso como agentes antivirales.**

(30) Prioridad: **11.01.2006 GB 0600510**
19.06.2006 GB 0612116

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.08.2011

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.08.2011

(73) Titular/es: **ARROW THERAPEUTICS LIMITED**
Britannia House, 7 Trinity Street
London SE1 1DA, GB

(72) Inventor/es: **Mathews, Neil;**
Thomas, Alexander, James, Floyd;
Spencer, Keith, Charles;
Tiberghien, Nathalie;
Pilkington, Christopher, John;
Jennens, Lyn;
Chana, Surinder y
Fraser, Ian, John

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 363 807 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de triazoloanilinopirimidina para uso como agentes antivirales

La presente invención se refiere a varios derivados de quinazolina que son útiles en el tratamiento o la prevención de una infección por flaviviridae.

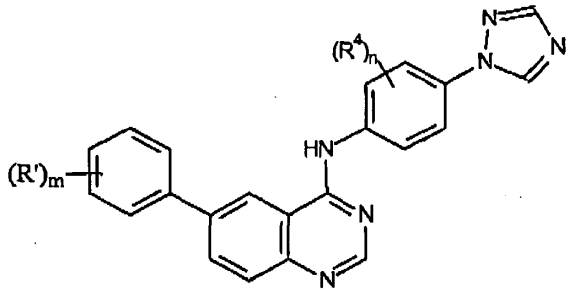
Los virus de la familia flaviviridae son pequeños, icosahédricos, con cubierta de virus que contienen un genoma de ARN sentido positivo. La familia consiste en los tres géneros, flavivirus, pestivirus y hepacivirus.

Muchos de los virus de flaviviridae son importantes patógenos humanos. De hecho, el género hepacivirus incluye el virus de la hepatitis C. Sin embargo, todavía no existe un tratamiento eficaz y seguro para la infección por flaviviridae.

El documento WO 98/02434 describe quinazolinas como inhibidores de la proteína tirosina cinasa. Ninguno de los compuestos específicamente descritos en dicho documento lleva un grupo triazolilanilina en la posición 6.

El documento WO 05/105761 describe derivados de morfolinilanilinoquinazolina que se encontraron que eran activos en la inhibición de la replicación de virus de flaviviridae.

Se ha encontrado sorprendentemente ahora que los derivados de quinazolina de la fórmula (Ib) y (Ic) son activos en la replicación de la inhibición del virus de flaviviridae y son eficaces por lo tanto en el tratamiento o la prevención de una infección de flaviviridae. La presente invención proporciona por lo tanto un derivado de quinazolina de fórmula (Ib), o su sal farmacéuticamente aceptable:

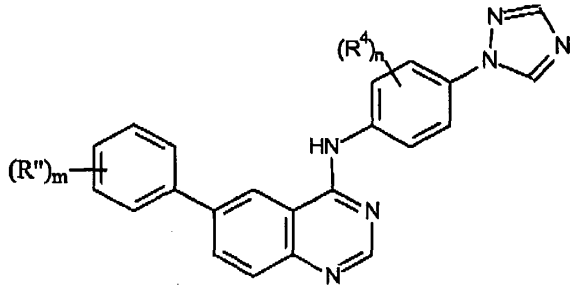


(Ib)

en el que:

- cada R^4 es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4};
- n es 0, 1 o 2;
- cada R' es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4}; y
- m es 0, 1 o 2.

La presente invención también proporciona un derivado de quinazolina de fórmula (Ic), o su sal farmacéuticamente aceptable:



(Ic)

en el que:

- cada R^4 es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4};
- m es 1;
- n es 0, 1 o 2; y
- R" es -A', -Het-A', -L-A', -Het-L-A', -L-Het-A', -Het-L-Het'-A' o -Het-L-Het'-L' en el que:
- A' representa un grupo fenilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 5 a 10 miembros o carbociclilo C_{3-6} que se fusiona opcionalmente a otro grupo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 5 a 10 miembros o carbociclilo C_{3-6};
- cada Het y Het' es igual o diferente y representa -O-, -S- o -NR'- donde R' es hidrógeno o alquilo C_{1-4};

- cada L es igual o diferente y representa alquileno C_{1-4}; y

- cada L' es igual o diferente y representa hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4} o aminoalquilo C_{1-4},

estando los restos fenilo, heteroarilo, heterociclilo y carbociclilo en A' no sustituidos o sustituidos por 1, 2 o 3 sustituyentes sustituidos que son iguales o diferentes y se seleccionan de átomos de halógeno y alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4}, haloalcoxi C_{1-4}, hidroxi, ciano, nitro y -NR'R", en el que cada R' y R" son iguales o diferentes y representan hidrógeno o alquilo C_{1-4}.

Como se usa en este documento, un grupo o resto alquilo C_{1-6} es un grupo o resto alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos y restos alquilo C_{1-6} incluyen grupos y restos alquilo C_{1-4} tales como metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo y t-butilo. Para despejar cualquier duda, cualquiera de los dos restos alquilo están presentes en un grupo, los restos alquilo pueden ser iguales o diferentes.

Como se usa en este documento, un grupo o resto alquileno C_{1-4} es un grupo o resto alquileno lineal o ramificado. Los ejemplos incluyen grupos y restos metileno, n-etileno y n-propileno.

Como se usa en este documento, un halógeno es típicamente cloro, flúor, bromo o yodo y es preferiblemente cloro, bromo o flúor, más preferiblemente cloro, flúor o yodo.

Como se usa en este documento, un grupo alcoxi C_{1-6} es típicamente dicho grupo alquilo C_{1-6} unido a un átomo de oxígeno. Un grupo haloalquilo o haloalcoxi es típicamente dicho grupo alquilo o alcoxi sustituido por uno o más de dichos átomos de halógeno. Típicamente, está sustituido por 1, 2 o 3 de dichos átomos de halógeno. Los grupos haloalcoxi preferidos incluyen grupos alcoxi sustituidos por uno o dos átomos de cloro, más preferiblemente por un átomo de cloro. Los grupos haloalquilo particularmente preferidos incluyen $-O-(CH_2)_3-Cl$. Otros grupos haloalquilo y haloalcoxi preferidos incluyen grupos perhaloalquilo y perhaloalcoxi tales como $-CX_3$ y $-OCX_3$ en los que X es dicho átomo de halógeno, por ejemplo cloro y flúor. Los grupos haloalquilo particularmente preferidos son $-CF_3$ y $-CCl_3$.

Como se usa en este documento, un grupo hidroxialquilo C_{1-4} es un grupo alquilo C_{1-4} sustituido por uno o más grupos hidroxi. Típicamente, está sustituido por uno, dos o tres grupos hidroxi. Preferiblemente, está sustituido por un grupo hidroxi simple. Un grupo hidroxialquilo preferido es el $-(CH_2)_2-OH$.

Como se usa en este documento, un grupo aminoalquilo C_{1-4} es un grupo alquilo C_{1-4} sustituido por uno o más grupos -NR'R" en el que cada R' y R" es igual o diferente y representa hidrógeno o alquilo C_{1-4}. Típicamente está sustituido por uno, dos o tres grupos -NR'R" en el que cada R' y R" es igual o diferente y representa hidrógeno o alquilo C_{1-4}. Preferiblemente cada R' y R" es igual o diferente y representa hidrógeno o alquilo C_{1-2}, más preferiblemente hidrógeno o metilo. Preferiblemente, el grupo alquilo C_{1-4} está sustituido por un grupo -NR'R" sencillo como se define anteriormente. Más preferiblemente, el grupo alquilo C_{1-4} está sustituido por un grupo $-N(CH_3)_2$ sencillo.

Como se usa en este documento, un grupo o resto heteroarilo de 5 a 10 miembros es un anillo aromático monocíclico de 5 a 10 miembros, tales como un anillo de 5 o 6 miembros, que contiene al menos un heteroátomo, por ejemplo 1, 2 o 3 heteroátomos, seleccionados de O, S y N. Los ejemplos incluyen grupos piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, furanilo, tienilo, pirazolidinilo, pirrolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, imidazolilo y pirazolilo. Se prefieren los grupos furanilo, tienilo, piridilo y pirimidilo.

Como se usa en este documento, un grupo o resto heterociclilo de 5 a 10 miembros es un anillo carbocíclico C_5-C_{10} monocíclico no aromático, saturado o insaturado, en el que uno o más, por ejemplo 1, 2 o 3, de los átomos de carbono se sustituyen con un resto seleccionado de N, O, S, S(O) y $S(O)_2$. Típicamente, es un anillo de 5 a 6 miembros.

Los grupos y restos heterociclilo adecuados incluyen grupos y restos pirazolidinilo, piperidilo, piperazinilo, tiomorfolinilo, S-oxotiomorfolinilo, S,S-dioxo-tiomorfolinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxolanilo, 1,2-dioxaciclohexilo, 1,3-dioxaciclohexilo, 1,4-dioxaciclohexilo y pirazolinilo. Los grupos heterociclilo preferidos son los grupos piperazinilo, pirrolidinilo, morfolinilo y 1,4-dioxaciclohexano, en particular grupos morfolinilo y 1,4-dioxaciclohexano.

Para despejar cualquier duda, aunque las definiciones anteriores de grupos heteroarilo y heterociclilo se refieren a un resto "N" que puede estar presente en el anillo, como será evidente para el químico experto el átomo N estará protonado (o llevara un sustituyente como se define anteriormente) si está unido a cada uno de los átomos de anillo adyacentes vía un enlace sencillo.

Como se usa en este documento, un resto C_{3-6} carbocíclico es un anillo hidrocarburo monocíclico no aromático saturado o insaturado que tiene de 3 a 6 átomos de carbono. Preferiblemente es un anillo saturado hidrocarburo (es decir, un resto cicloalquilo) que tiene de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Los compuestos particularmente preferidos incluyen:

1. (6-Yodo-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

2. (6-terc-Butil-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

3. [7-(3-Cloro-propoxi)-6-metoxi-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

4. [6-Metoxi-7-(3-morfolin-4-il-propoxi)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

5. [6-(3,4-Difluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

6. [6-(4-Cloro-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

7. [6-(3-Fluoro-4-metoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

8. [6-(4-Etoxi-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

9. {6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

10. [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

11. [6-(3,4-Dietoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

12. {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triaaol-1-il-fenil)-amina.

13. {6-[4-Piridin-4-ilmetoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

14. [6-(4-Morfolin-4-il-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

15. [6-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

16. [6-(2-Metoxi-pirimidin-5-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

17. (6-Tiofen-2-il-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

18. [6-(4-Metil-tiofen-2-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

19. (6-Furan-2-il-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4-triazol-1-il-fenil)-amina.

20. {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-3-fluoro-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

21. (6-Bromo-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

22. N-(2-{2-Fluoro-4-[4-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenilamino)-quinazolin-6-il]-fenoxi}-etil)-N,N',N'-trimetiletano-1,2-diamina.

23. [6-(3-Isopropoxi-4-metoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

24. [6-(4-Fluoro-3-isopropoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

25. {6-[3-Fluoro-4-(3-pirrolidin-1-il-propoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

26. {6-[3-Fluoro-4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

27. [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

28. Ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico.

29. Ácido 1-{4-[6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il-amino]-fenil}-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico.

30. Dimetilamida del ácido 1-{4-[6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-ilamino]-fenil}-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico.

31. Metilamida del ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico.

32. Dimetilamida del ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico.

33. (6-Bromo-quinazolin-4-il)-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

34. [1-(4-{6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-il]-(4-metil-piperazin-1-il)-metanona.

35. 2-Metoxi-4-[4-(4-[1,2,4]triazol-1-y-fenilamino)-quinazolin-6-il-fenol.

36. 2-Metoxi-5-[4-(4-[1,2,4]tiazol-1-il-fenilamino)-quinazolin-6-il]fenol.

37. {6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]quinazolin-4-il}-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

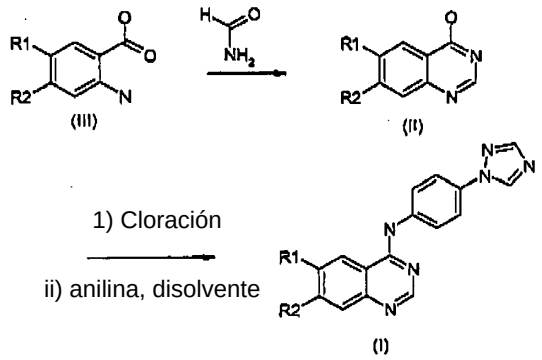
Los compuestos de fórmula (Ib) y (Ic) que contienen uno o más centros quirales se pueden usar en la forma enantiomérica o diastereoisoméricamente pura, o en la forma de una mezcla de isómeros. Para despejar cualquier duda, los compuestos de fórmula (Ib) y (Ic) se pueden usar, si se desea, en la forma de solvatos. Además, para despejar cualquier duda, los compuestos de la invención se pueden usar en cualquier forma tautomérica.

Como se usa en este documento, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal con un ácido o una base farmacéuticamente aceptables. Los ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen tanto ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, difosfórico, bromhídrico o nítrico y ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, fumárico, maleico, málico, ascórbico, succínico, tartárico, benzoico, acético, metanosulfónico, etanosulfónico,

bencenosulfónico o ácido p-toluenosulfónico. Las bases farmacéuticamente aceptables incluyen hidróxidos de metal alcalino (por ejemplo, sodio o potasio) y metal alcalino térreo (por ejemplo, calcio o magnesio) y bases orgánicas tales como aminas de alquilo, aminas de aralquilo y aminas heterocíclicas.

Los compuestos de la invención se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con los siguientes esquemas de reacción. En los esquemas que siguen, para una aclaración más precisa, los grupos R^4 han sido omitidos (es decir, n es cero). Los compuestos análogos donde n es 1 o 2 se pueden preparar empleando un derivado de 4-triazolilanilina adecuadamente funcionalizado que lleva los sustituyentes apropiados en la posición R^4.

Esquema 1

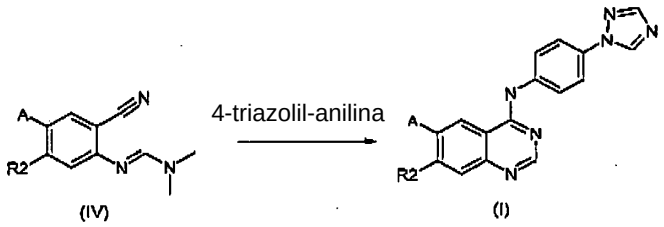


Con referencia al Esquema 1, la conversión de compuestos de fórmula (II) en compuestos de fórmula (I) se logra convirtiendo al grupo 4-hidroxi de compuestos de fórmula (II) en un grupo saliente adecuado (por ejemplo, cloro) usando un reactivo tal como cloruro de tionilo como disolvente con la adición de un activador catalítico (por ejemplo, dimetilformamida), y posterior reacción con 4-triazolilanilina en un disolvente adecuado (por ejemplo, acetonitrilo).

Con referencia al Esquema 1, la conversión de compuestos de fórmula (III) en compuestos de fórmula (II) es conocida por los expertos en la técnica, siendo realizada convenientemente con formamida como disolvente y a temperatura elevada (por ejemplo, de reflujo).

Los compuestos de fórmula (I) en los que R_1 es -A, -A-A', -A-Het-A', -A-L-A', -A-Het-L-A', -A-L-Het-A', -A-Het-L-Het'-A' o -A-Het-L-Het'-L' se pueden producir de forma alternativa por la reacción mostrada en el Esquema 2 más abajo. La reacción se lleva a cabo típicamente en presencia de ácido acético a una temperatura de aproximadamente 120°C y durante un periodo de aproximadamente 1 hora.

Esquema 2



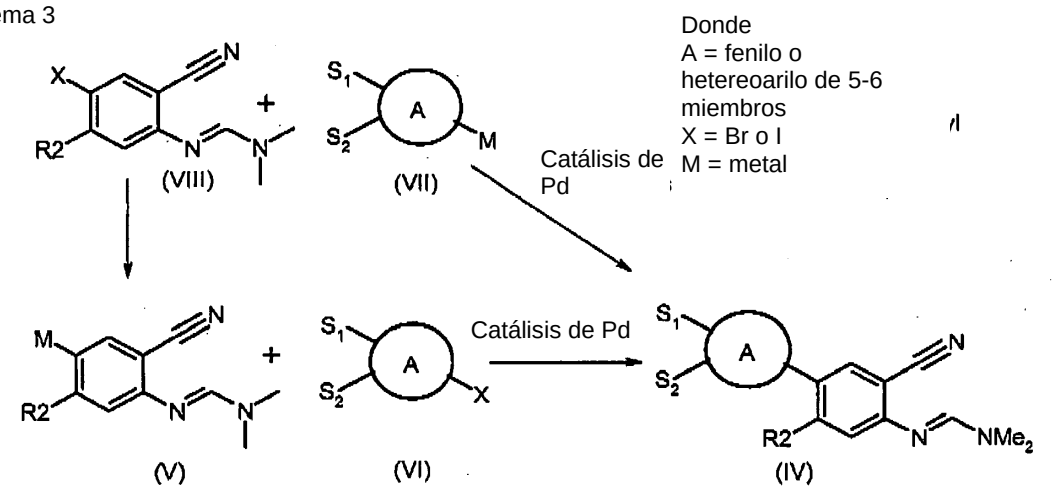
Los compuestos de fórmula (IV) usados como material de partida en el Esquema 2 se pueden preparar mediante una de las reacciones representadas en el Esquema 3 más abajo. En el Esquema 3, los grupos S1 y S2 pueden representar grupos protectores, tales como bencilo, que se pueden sustituir por el grupo deseado mediante métodos conocidos en la técnica siguiendo la reacción. Las desprotección se puede llevar a cabo antes o después de la conversión del compuesto de fórmula (IV) al compuesto de fórmula (I).

Con referencia al Esquema 3, el tratamiento de compuestos de fórmula (VIII) con un reactivo organometálico (VII), o el tratamiento de compuestos de fórmula (VI) con un reactivo organometálico (V), se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente adecuado (tal como tetrahidrofurano, dimetilformamida, tolueno o propan-2-ol) y a una temperatura adecuada (por ejemplo, de la ambiente al reflujo). Adecuadamente, la reacción se realiza bajo catálisis de paladio (por ejemplo, 10mol% de tris (dibencilidenoacetona) dipaladio (II), 10mol% de diclorobis (trifenilfosfina)paladio (0), 1mol% de cloruro de bis(benzonitrilo)paladio(II) o 0,02 mol% de tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)) en presencia de una base orgánica (por ejemplo, trietilamina) o una base inorgánica (por ejemplo, carbonato de sodio 2N o fosfato de potasio). Cuando el reactivo (VII) es un organoestanano (por ejemplo, M = $SnBu_3$), cualquier experto en la técnica reconocerá la reacción como un ejemplo de un acoplamiento de Stille donde pueden ser beneficiosos otro aditivos (por ejemplo, cloruro de litio), óxido de plata y adecuadamente la reacción se realiza en tolueno y a temperatura de reflujo. Cuando el reactivo (VII) es un derivado del ácido borónico, cualquier experto en la técnica reconocerá la

reacción como un ejemplo de un acoplamiento de Suzuki-Miyaura que se puede realizar adecuadamente a 60°C en propan-2-ol.

Como cualquier experto en la técnica apreciará, el grupo X en los compuestos representados en el Esquema 3 es un grupo saliente apropiado tal como I o Br.

Esquema 3



Los materiales de partida en el anterior esquema de reacción son compuestos conocidos, o se pueden preparar por analogía con métodos conocidos.

Los compuestos de la presente invención son terapéuticamente útiles. La presente invención proporciona por lo tanto un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal. También se proporciona una composición farmacéutica que comprende un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

Dicha composición farmacéutica contiene típicamente hasta 85% en peso de un compuesto de la invención. Más típicamente, contiene hasta 50% en peso de un compuesto de la invención. Las composiciones farmacéuticas preferidas son estériles y no tienen pirógenos. Además, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención contienen típicamente un compuesto de la invención que es un isómero puro sustancialmente óptico.

Como se explica anteriormente, los compuestos de la invención son activos contra una infección de flaviviridae. La presente invención proporciona por lo tanto el uso de un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la prevención de una infección por flaviviridae. También se proporciona un método para tratar un paciente que padece o es susceptible de padecer una infección por flaviviridae, cuyo método comprende administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib) o su sal farmacéuticamente aceptable.

La familia de flaviviridae contiene tres géneros. Estos son hepacivirus, flavivirus y pestivirus. Los compuestos de la invención son activos en el tratamiento o la prevención de una infección por hepacivirus, una infección por flavivirus o una infección por pestivirus.

Las infecciones por pestivirus típicas que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen el virus de la diarrea viral bovina, el virus de la fiebre porcina clásica y el virus de la enfermedad de la frontera.

Las infecciones por flavivirus típicas que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen el virus de la fiebre amarilla, el virus de la fiebre del dengue, el virus de la encefalitis japonesa y virus de la encefalitis vector-garrapata.

Las infecciones por hepacivirus típicas que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen el virus de la hepatitis C.

Los compuestos de la presente invención son especialmente activos contra la hepatitis C. Típicamente, dicho flavivirus es por lo tanto el virus de la hepatitis C.

Los compuestos de la invención se pueden administrar en varias formas de administración. Por tanto, se pueden administrar oralmente, por ejemplo como comprimidos, tabletas, pastillas, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos dispersables o gránulos. Los compuestos de la invención también pueden ser administrados parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraesternalmente, transdermalmente o por técnicas de infusión. Los compuestos también pueden ser administrados como supositorios.

Los compuestos de la invención se formulan típicamente para administración con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, las formas sólidas orales pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de patatas; lubricantes, p.ej sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o polietilenglicoles; sustancias espesantes; p.ej almidones, gomas arábigas, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes desintegrantes, p.ej almidona, ácido algínico, alginatos o glicolato de almidón de sodio; mezclas efervescentes; colorantes; aromatizantes; agentes humectantes, tales como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias inactivas no tóxicas y farmacológicamente usadas en formulaciones farmacéuticas. Dichas preparaciones farmacéuticas pueden ser fabricadas de forma conocida, por ejemplo, por medio de mezcla, granulación, compresión, revestimiento con azúcar, o procesos de revestimiento con películas.

Las dispersiones líquidas para la administración oral pueden ser jarabes, emulsiones y suspensiones. Los jarabes pueden contener como vehículos, por ejemplo, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y/o sorbitol.

Las suspensiones y las emulsiones pueden contener como vehículo, por ejemplo, una goma natural, agar-agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o poli(alcohol de vinilo). La suspensión o las soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, agua p.ej estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p.ej propilenglicol, y de ser deseado, una cantidad adecuada de hidrocloruro de lidocaína.

Las soluciones para inyección o infusión pueden contener como vehículo, por ejemplo, agua estéril o preferiblemente pueden estar en una forma de soluciones salinas estériles, acuosas e isotónicas.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar junto con agentes anti-virales conocidos. Los agentes anti-virales conocidos preferidos en este aspecto son interferón y ribavirina y sus derivados, que son conocidos para el tratamiento de la hepatitis C (*Clinical Microbiology Reviews*, Jan, 2000, 67-82). El mencionado medicamento por lo tanto típicamente comprende además interferón o un derivado de éste y/o ribavirina o un derivado de ésta. Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

(a) un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable;

(b) interferón o un derivado de éste y/o ribavirina o un derivado de ésta; y

(c) un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona un producto que comprende:

(a) un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable; y

(b) interferón o un derivado de éste y/o ribavirina o un derivado de ésta, para uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento del cuerpo humano o animal.

Un derivado de interferón preferido es el PEG-interferón. Un derivado de ribavirina preferido es la viramidina.

Además, se encuentra que los compuestos de la invención interaccionan sinérgicamente con interferón. Típicamente, por lo tanto, el componente (b) de la composición farmacéutica anterior o el producto es interferón, más típicamente un interferón tipo I, preferiblemente un interferón α.

Un interferón preferido es un interferón α2b, que se pegila típicamente, por ejemplo PEG-Intron (Schering Plough Corp) o un producto de fusión de proteína tal como Albuferón (Human Genome Sciences). El interferón α2b también se puede formular para la liberación controlada.

Otro interferón preferido es interferón es un interferón α2a. Preferiblemente, el interferón α2a se pegila, por ejemplo Pegasys (Roche) y Roferon A (Roche).

Otro interferón preferido es el interferón α8 (Riotech).

Otro interferón preferido es el interferón alfacon-1 (Intermune), preferiblemente el interferón alfacon-1 pegilado.

En otra realización, el interferón es el interferón ®, preferiblemente el interferón ®-1a. (Serono SA).

En otra realización, el interferón es el interferón gamma (Intarcia).

Preferiblemente, el interferón está contenido en una formulación o dispositivo que permite que el interferón se libere de forma controlada. Son ejemplos las tecnologías de implante DUROS desarrollados por ALZA Corp y la tecnología de liberación farmacéutica SABER desarrollada por Durect Corp.

La presente invención también proporciona el uso de un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la prevención de una infección por HCV por la co-administración con dicho interferón o derivado de interferón. También se proporciona el uso de dicho interferón o derivado de interferón, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la prevención de una infección por HCV, mediante la co-administración con un derivado de quinazolina de fórmula (Ia) y (Ib), como se define anteriormente, o su sal farmacéuticamente aceptable.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención y, cuando se desee, dicho interferón o derivado de interferón se administra a un paciente. Una dosis típica es de aproximadamente 0,01 a 100 mg por kg de peso corporal, de acuerdo con la actividad del compuesto específico, la edad, el peso y las condiciones del sujeto que se trate, el tipo y la seriedad de la enfermedad y la frecuencia y la ruta de la administración. Preferiblemente, los niveles de dosis diarios son de 0,05 a 16 mg por kilogramo de peso corporal, más preferiblemente, de 0,05 a 1,25 mg por kilogramo de peso corporal.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar con otros agentes antivirales. Los agentes antivirales preferidos en este aspecto son ciclosporinas, interleuquina 2, interleuquina 6, interleuquina 12, RNA interferente o RNA antisentido, todos los cuales son conocidos para el tratamiento de la Hepatitis C. Los compuestos de la presente invención también se pueden usar junto con otros inhibidores de las secuencias del ácido nucleico de HCV o dianas proteicas de HCV. Las dianas proteicas de HCV preferidas incluyen la serina proteasa de HCV como se ilustra por VX-950 de Vertex y SCH-503034 de Scering Plough ambos inhibidores de proteasa, polimerasa de HCV como se ilustra por HCV-796 de Wyeth, helicasa de HCV, NS4B de HCV y NS5A de HCV. Además, los compuestos de la presente invención también se pueden usar junto con inhibidores de HCV para entrar dentro de la célula o ser inhibidor de la interacción de HCV con proteínas celulares del huésped.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención. Sin embargo estos no limitan la invención de ningún modo. En cuanto a esto, es importante entender que el ensayo particular usado en la sección de los Ejemplos se diseña solo para proporcionar una indicación de actividad anti-viral. Hay muchos ensayos disponibles para determinar dicha actividad, y un resultado negativo de ningún ensayo particular no es, por lo tanto, determinante.

EJEMPLOS

Materiales y Métodos:

Todas las temperaturas son en °C. La cromatografía de capa delgada (TLC) se llevó a cabo sobre placas de plástico revestidas con Si 60G con indicador UV_{254} (Polygram). Todos los espectros RMN se obtuvieron a 250MHz en d_6-DMSO a menos que se diga otra cosa, los desplazamientos químicos se expresan en ppm, las constantes de acoplamiento aparentes (J) dadas para multiplicidades obvias.

"Concentrado" implica que los disolventes fueron eliminados *in vacuo*. Todos los sólidos se secaron a 40°C.

CONDICIONES LC-MS

Las muestras se corrieron en un ZMD de MicroMass, usando electropulverización con detección iónica positiva – negativa simultánea. Columna : Synergi Hydro-RP, 30 x 4,6 mm I.D, 4μm. Gradiente: de 95:5 a 5:95 v/v H_2O/CH_3CN + 0,05% ácido fórmico sobre 4,0 min, mantenido a 3 min, vuelta a 95:5 v/v H_2O/CH_3CN + 0,05% ácido fórmico sobre 0,2 min y mantenido a 95:5 v/v H_2O/CH_3CN + 0,05% ácido fórmico sobre 3 min.

Detección: PDA 250 - 340 nm.

Caudal: 1,5 ml/min.

Todos los tiempos de retención (rt) se expresan en minutos.

Parte experimental:

Intermedio 1: 2-amino-5-Yodobenzonitrilo

Preparado por el método de A. Rosowsky & H. Chen, *J. Org. Chem*. 2001, **66**, 7522-7526.

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,64 (1H, s), 7,55 (1H, dd, J 8,5, 2.5Hz), 6.53 (1H, d, J 8,5Hz), 4.66 (2H, s ancho); LC-MS rt 2.42 m/z 243 ES-.

Intermedio 2: N'-(2-Ciano-4-yodo-fenil)-N,N-dimetil-formamidina

Una disolución de 2-amino-5-yodobenzonitrilo (50 g, 0,2 mol) en DMF-DMA (2,5 eq, 6 ml) se calentó a 120°C durante 2 h. El exceso de DMF-DMA se eliminó por concentración para dejar el compuesto del título como un aceite marrón viscoso (61 g, cuant.). Solidifica con reposo a 4°C.

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,79 (1H, d, J 1,9Hz), 7,65 (1H, dd, J 1,9, 8,5Hz), 7,57 (1H, s), 6,70 (1H, d, J 8,2Hz), 3,08 (6H, s); LC-MS rt 2,1 M/z 300 ES+

Intermedio 3: 2-amino-5-bromobenzonitrilo

Una disolución de 2-aminobenzonitrilo (11,8g, 0,1 mol) en AcOH (120 ml) se trató con bromuro de amonio (10,3 g, 0,105 mol) y peróxido de hidrógeno (10,2 ml, 35 % en agua, 0,105 mol). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante aprox. 24 horas hasta que el análisis LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró para eliminar el AcOH, antes de agitar el residuo con solución de NaOH acuosa al 30 % hasta ser básico. El sólido resultante se eliminó por filtración y se lavó con agua hasta secarse. Este sólido se disolvió entonces en un exceso de DCM. La disolución se concentró hasta que comenzó la precipitación y luego se dejó reposar hasta que la cristalización se completó. El sólido resultante se eliminó por filtración y se lavó con un poco de DCM. Esto dio el compuesto deseado como un sólido blanquecino cristalino (19,2 g, 97%).

^{1}H RMN ™ 7,61 (1H, d, J 2,5Hz), 7,43 (1H, dd, J 9, 2,5Hz), 6,75 (1H, d, J 9Hz), 6,28 (2H, s ancho); LC-MS rt 2,24

Intermedio 4: N'-(4-bromo-2-ciano-fenil)-N,N-dimetil-formamidina

Una disolución de 2-amino-5-bromobenzonitrilo (10,25 g, 52 mmol) en DMF-DMA (20 ml) se calentó a reflujo durante 1 hora. La mezcla se enfrió y concentró hasta secarse antes de triturar con t-butil-metil-éter (TBME) (10 ml). Después se añadió petróleo (30 ml) y el sólido se molió, y se dejó reposar durante 1 hora. El producto sólido se filtró y se lavó con TBME/petróleo (1:2) para proporcionar un sólido cristalino (11,95 g, 91,2 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,55 (1H, d, J 2Hz), 7,51 (1H, s), 7,41 (1H, dd, J 2, 9Hz), 6,75 (1H, d, J 9Hz), 3,01 (6H, s); LC-MS rt 1,95 m/z 252/254 ES-.

Intermedio 5: 2-Amino-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzonitrilo

Una mezcla de Pd Cl_2 (dppf) (3,35 g), acetato de potasio (12,07 g) y bis(pinacolato)boro (12,48 g) en DMF seco (80 ml) se trató con el Intermedio 1 (10 g) y se calentó a 80 ° durante 4 h. La mezcla enfriada se dividió entre agua (400 ml) y DCM (400 ml). La fase acuosa se extrajo después con DCM (2 x 100 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (90 g, MPLC) con EtOAc al 10-30 % en petróleo como eluyente. Las concentración de las fracciones que contiene el producto y la trituración con más petróleo dio el producto deseado como un sólido blanco (6,91 g, 69 %)

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,87 (1H, s), 7,72 (2H, d, J 8,21), 6,7 (1H, d, J 8,2Hz), 4.57 (2H, s ancho), 1,31 (12H, s); LC-MS rt 2,84 m/z 244 ES+.

Intermedio 6: N'-[2-Ciano-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-N,N-dimetil-formamidina

Una suspensión del Intermedio 5 (750 mg) en DMF-DMA (1ml) se calentó a 100°C bajo N_2 durante 30 min, luego se enfrió a rt. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por SPE en gel de sílice (5 g) con EtOAc/petróleo al 10% como eluyente. Esto dio el compuesto del título como un aceite claro que cristalizó con reposo (915 mg, 100 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,98 (1H, s), 7,817 (1H, d, J 8,2Hz), 7,62 (1H, s), 6,92 (1H, d, J 7,6Hz), 3,1 (3H, s), 3,07 (3H, s), 1,33 (12H, s); LC-MS rt 2,73m/z 300 ES+

Intermedio 7: 4-(4-Yodo-fenoximetil)-piridina

Una mezcla de 4-yodofenol (1 g) K_2CO_3 (en polvo, 1,88 g) y cloruro de 4-picolilo (822 mg) en acetona (15 ml) se calentó a reflujo durante 16 h. Se añadió una porción más de cloruro de 4-picolilo (411 mg) y el calentamiento continuó durante 6 h. Se enfrió, filtró y el filtrado se adsorbió sobre sílice y se purificó por MPLC (35 g Si, 10-50 % EtOAc en elución con gradiente de petróleo durante 30 min). Esto dio, en la concentración, un sólido blanco (710 mg, 50 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 8,64 (2H, d, J 5,69Hz), 7,6 (2H, d, J 8,85Hz), 7,35 (2H, d, J 5,69Hz), 6,76 (2H, d, J 8,85Hz), 5,08 (2H, s).

Intermedio 8: 4-Bromo-1,2-dietoxi-benceno

A una mezcla muy agitada de dietoxibenceno (500 mg) y bromuro de amonio (323 mg, 1,1 eq) en MeCN (20 ml) se añadió oxona (2,03 g, 1,1 eq). Esta suspensión se agitó a rt durante 4 h, después la suspensión se filtró y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título (723 mg,> 90 %) que se usó sin otra purificación.

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 6,98 (2H, m), 6,73 (1H, d, J 8,85Hz), 4,05 (4H, m), 1,44 (6H, m); LC-MS rt 2,48 m/z 279 ES+.

Intermedio 9: 4-Bromo-1-(2-bromoetoxi)-2-fluorobenceno

A una disolución agitada de 4-bromo-2-fluorofenol (3,5 g, 18,3 mmol, 1eq), 2-bromoetanol (3,44 g, 27,5 mmol, 1,5eq) y trifenilfosfina (7,21 g, 27,5 mmol, 1,5eq) en THF (50 mL) a 0°C, bajo nitrógeno, se añadió DEAD (4,78 g, 27,5 mmol, 1,5eq) a gotas mediante una jeringuilla. La reacción se dejó calentar entonces a temperatura ambiente. Después de 2h la reacción se concentró hasta el secado *in vacuo* y el residuo blanquecino se situó en lo alto de una almohadilla corta de sílice y se lavó con 9:1 éter de petróleo:EtOAc (3 x 50 mL). El filtrado se concentró para dar el compuesto del título como un aceite claro (5,28 g, 97%).

$_1$H-NMR (DMSO-d_6), 3,57 (t, 2H), 4,26 (t, 2H), 6,80 (m,1H), 7,12 (m, 1H), 7,19 (m, 1H). LC-MS rt 2,90 m/z no ion.

Intermedio 10: N-[2-(4-bromo-2-fluorofenoxi)etil]-N',N',N'-trimetiletano-1,2-diamina

Una mezcla del Intermedio 9 (3g, 10 mmol, 1eq), N,N,N'-trimetiletilendiamina (1,54 g, 15 mmol, 1,5eq) y carbonato de potasio (2,09 g, 15 mmol), 1,5eq) en acetona se calentó a reflujo. Después de 16h la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se filtró. El filtrado se concentró in vacuo para dar un jarabe naranja palo. El jarabe se purificó por cromatografía de columna de destello, eluyendo inicialmente con CH_2Cl_2 100% y luego 100:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3, El compuesto del título se aisló como un jarabe naranja palo (2,24 g, 70%). R_f = 0,12 (100:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3).

$_1$H-NMR (DMSO-d_6) 2,41 (s, 3H), 2,57 (s, 6H), 2,82 (m, 4H), 2,91 (t, 2H), 4,14 (t, 2H), 6,89 (m, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,27 (m, 1H). LC-MS rt 1,79 m/z 320 ES+.

Intermedio 11: N'-(3-ciano-4'-{2-[(2-dimetilaminoetil)metilamino]etoxi}-3'-fluorobifenil-4-il)-N,N-dimetilformamidina

Una mezcla del Intermedio 10 (950 mg, 2,98 mmol), 1eq), bis(pinacolato)diboro (1,51 g, 5,95 mmol, 2eq), acetato de potasio (1,02g, 10,43 mmol), 3,5eq) y $PdCl_2(dppf)_2CH_2Cl_2$ (245 mg, 0,30 mol, 0,1eq) en DMF (10 mL) se calentó a

80°C, bajo nitrógeno. Después de 16h la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró *in vacuo* para dar un residuo marrón. El residuo se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y los extractos se combinaron y concentraron *in vacuo* hasta el secado para dar un aceite marrón (1,09g). Una mezcla del aceite (1,09g), N'-(2-ciano-4-yodofenil)-N,N-dimetilformamida (811 mg, 2,71 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (162 mg, 0,14 mmol) en DME (10 mL) y una solución de Na_2CO_3 acuosa saturada (5 mL) se calentó a reflujo. Después de 20h la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se concentró *in vacuo* para dar un residuo marrón. El residuo se purificó por cromatografía de columna de destello eluyendo con 800:8:1, 200:8:1 y 100:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3, El compuesto del título se aisló como un aceite marrón palo (273 mg, 22%). R_f= 0,08 (100:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3).

$_1$H-NMR (DMSO-d_6) 2,20 (s, 6H), 2,33 (s, 3H), 2,41 (t, 2H), 2,57 (t, 2H), 2,81 (t, 2H), 3,03 (s, 3H), 3,05 (s, 3H), 4,11 (t, 2H), 6,95 (m, 2H), 7,17 (m, 2H), 7,58 (m, 2H), 7,61 (m, 1H). LC-MS rt 1,86 m/z 412 ES+.

Intermedio 12: 2-Metoxi-5-bromofenol

Preparado por el método de Meyers y Snyder, *J. Org. Chem*, 1993, **58**, 1, 42.

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,00 (1H, d, J 2,25Hz), 6,90 (1H, dd, J 8,5, 2,25Hz), 6,66 (1H, d, J 8,75Hz), 5,57 (1H, s), 3,81 (3H, s)

Intermedio 13: 5-Bromo-2-fluorofenol

Preparado por el método de M Elliott, N Janes & B Khambay, documento GB2187731,

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,08 (1H, m), 6,89 (2H, m), 5,14 (1H, s)

Intermedio 14: 4-Bromo-2-isopropoxi-1-metoxi-benceno

A una disolución del Intermedio 12 (279 mg, 1,37 mmol) en DMF (5ml) se añadió carbonato de potasio (945 mg, 6,85 mmol) y 2-yodopropano (684Pl, 6,85 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante unas 4hr. El análisis por LCMS mostró un 20% del fenol de partida restante de modo que se añadió otra porción de 2-yodopropano (684Pl, 6,85 mmol) y la mezcla se agitó a 90°C toda la noche.

El análisis LC-MS mostró el consumo de todo el fenol de partida de modo que la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se diluyó con agua (50ml) y se extrajo en acetato de etilo tres veces. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida proporcionando un aceite marrón oscuro (294 mg, 87%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 6,93 (2H, m), 6,68 (1H, d, J 8,75Hz), 4,43 (1H, m), 3,75 (3H, s), 1,31 (6H, d, J 6Hz); LC-MS rt 2,80.

Intermedio 15: 4-Bromo-1-fluoro-2-isopropoxi-benceno

A una disolución del Intermedio 13 (262 mg, 1,37 mmol) en DMF (5ml) se añadió carbonato de potasio (945 mg, 6,85 mmol) y 2-yodopropano (684Pl, 6,85 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante unas 4hr. El análisis por LCMS mostró 20% del fenol de partida restante de modo que se añadió otra porción de 2-yodopropano (684Pl, 6,85 mmol) y la mezcla se agitó a 90°C toda la noche. El análisis por LCMS mostró el consumo de todo el fenol de partida de modo que la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se diluyó con agua (50ml) y se extrajo en acetato de etilo tres veces. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida proporcionando un aceite marrón oscuro (274 mg, 86%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 7,00 (1H, dd, J 2,25Hz), 6,92 (2H, m), 4,45 (1H, m), 1,30 (6H, d, J 6,25Hz) LC-MS rt 2,93

Intermedio 16: 4-Amino-3'-isopropoxi-4'-metoxi-bifenil-3-carbonitrilo

A una disolución del Intermedio 14 (294 mg, 1,2 mmol) en dimetoxietano (4 ml) se añadió el Intermedio 5 (439 mg, 1,8 mmol) seguido por carbonato sódico ac. sat. (2 ml) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (139 mg, 0,12 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó a 80°C toda la noche. El análisis LCMS mostró el consumo del material de partida de modo que la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo en diclorometano tres veces. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida. La cromatografía de columna (gradiente 0 - 50% EtOAc en éter de petróleo) produjo el producto deseado como un sólido amarillo (137 mg, 40%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,47 (2H, m), 6,94 (2H, m), 6,87 (1H, d, J 9Hz), 6,75 (1H, d, J 8,5Hz), 4,55 (1H, quin, J 6,25Hz), 4,37 (2H, s), 3,81 (3H, s), 1,34 (6H, d, J 6,25 Hz); LC-MS rt 2,70

Intermedio 17: 4-Amino-4'-fluoro-3'-isopropoxi-bifenil-3-carbonitrilo

A una disolución del Intermedio 15 (274 mg, 1,18 mmol) en dimetoxietano (4 ml) se añadió el Intermedio 5 (439 mg, 1,8 mmol) seguido por carbonato sódico ac. sat. (2 ml) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (139 mg, 0,12 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó a 80°C toda la noche. El análisis LCMS mostró el consumo del material de partida de modo que la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo en diclorometano tres veces. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida. La cromatografía de columna (gradiente 0 - 50% EtOAc en éter de petróleo) produjo el producto deseado como un sólido amarillo (196 mg, 60%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,41 (2H, m), 6,97 (3H, m), 6,72 (2H, d, J 8Hz), 4,53 (1H, quin, J 6Hz), 4,40 (2H, s), 1,33 (6H, d, J 6Hz); LC-MS rt 2,86

Intermedio 18: N'-(3-Ciano-3'-isopropoxi-4'-metoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una disolución del Intermedio 16 (137 mg, 0,41 mmol) en DMF-DMA (2 ml) se agitó a 80°C toda la noche. El análisis LCMS mostró el consumo del material de partida. La mezcla de reacción evaporada bajo presión reducida y luego se redisolvió en tolueno y se evaporó bajo presión reducida de nuevo. La cromatografía de columna (gradiente 20 - 40% EtOAc en éter de petróleo) produjo el compuesto deseado como un aceite amarillo oscuro que se solidificó bajo reposo (120 mg, 87%)

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,63 (1H, d, J 2Hz), 7,57 (1H, s), 7,54 (1H, dd, J 8,5Hz, 2,25Hz), 7,00 (2H, s), 6,91 (2H, m), 4,54 (1H, quin, J 6Hz), 3,82 (1H, s), 3,05 (6H, d, J 6,5Hz), 1,35 (6H, d, J 6Hz); LC-MS rt 2,40 m/z 338 ES+

Intermedio 19: N'-(3-Ciano-4'-fluoro-3'-isopropoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una disolución del Intermedio 17 (196 mg, 0,60 mmol) en DMF-DMA (2 ml) se agitó a 80°C toda la noche. El análisis LCMS mostró el consumo del material de partida. La mezcla de reacción se evaporó bajo presión reducida y luego se redisolvió en tolueno y se evaporó bajo presión reducida de nuevo. La cromatografía de columna (gradiente 20 - 40% EtOAc en éter de petróleo) produjo el compuesto deseado como un aceite amarillo oscuro que solidificó en reposo (190 mg, 97%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 7,57 (2H, m), 7,49 (1H, dd, J 8,5Hz, 2,25Hz), 6,99 (4H, m), 4,53 (1H, quin, J 6Hz), 3,02 (6H, d, J 5,75Hz), 1,32 (6H, d, J 6Hz); LC-MS rt 2,71 m/z 326 ES+

Intermedio 20: 1-(3-Metil-4-nitro-fenil)-1H-[1,2,4]triazina

A un matraz de fondo redondo de 50 ml se añadió el 4-fluoro-2-metil-1-nitrobenceno (0,5 g, 3,22 mmol), Na_2CO_3 (0,36 g, 3,38 mmol) y 1,2,4-triazol (0,22 g, 3,22 mmol) en DMF (DRY 10 ml). La mezcla se agitó a 125°C durante 24 hr bajo nitrógeno. El DMF se evaporó hasta el secado y el producto crudo se puso sobre una columna de sílice y se eluyó con MeOH al 2,5%: DCM. Se aislaron 0,47 g (72%) de un sólido blanco.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 9,52 (1H, s), 8,39 (1H, s), 8,27 (1H, d, J = 8,85Hz), 8,13 (1H, d, J = 1,89Hz), 8,02 (1H, dd, J = 8,85Hz, 2,53Hz), 2,68 (3H, s); LC-MS rt 2,26 m/z 205 ES+

Intermedio 21: 2-Metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenilamina

A un matraz de fondo redondo de 50 ml se añadió el Intermedio 20 (0,47 g, 2,3 mmol) y EtOH (10 ml). A esta mezcla agitada a temperatura ambiente se añadió $SnCl_2,2H_20$ (2,5 g, 11,5 mmol). La mezcla se calentó entonces a 80°C durante 4 hr. La mezcla se dejó enfriar y el pH de la solución se llevó a 8 vía la adición de NaOH 2N. La mezcla se filtró y se concentró hasta secarse luego se dividió entre DCM:H_20 (50ml:25 ml). La capa acuosa se separó y se lavó de nuevo con DCM (25 ml). Las fracciones de DCM se combinaron y se pusieron a través de una frita hidrofóbica para eliminar el agua. El filtrado se concentró hasta el secado para proporcionar un sólido marrón 0,3 g (75%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 9,02 (1H, s), 8,15 (1H, s), 7,43 (1H, d, J = 1,89Hz), 7,37 (1H, dd, J = 8,20Hz, 2,52Hz), 6,76 (1H, d, J = 8,85Hz), 5,20 (2H, s), 2,18 (3H, s); LC-MS rt 1,33 m/z 175 ES+

Intermedio 22: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(2-metoxi-etoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Etapa 1: 4-Bromo-2-fluoro-1-(2-metoxi-etoxi)-benceno

Una mezcla de 4-fluorofenol (9,8 ml), carbonato de potasio en polvo (2eq, 24 g) y bromoetil-metil-éter (1,1eq, 20,16 ml) en acetona (60 ml) se calentó a reflujo toda la noche. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con agua y se extrajo en EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con carbonato de sodio acuoso, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para dar el producto como un aceite móvil (22 g, cuantitativo).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,14 (2H, m), 6,84 (1H, t, J 8,85Hz), 4,09 (2H, m), 3,69 (2H, m), 3,38 (3H, s); LC-MS rt 2,67 m/z no ion

Etapa 2: Ácido 3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenilborónico

A una disolución de 4-bromo-2-fluoro-1-(2-metoxi-etoxi)-benceno (4,98g) en THF (40 ml) se añadió un pequeño cristal de yodo y luego Mg (730 mg, 1,5eq) a porciones. Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 4h. La mezcla gris se enfrió a -78°C, se añadió trimetilborato (1,2eq., 2,25 ml) y se dejó calentar toda la noche. Se añadió HCl 1N (aq, 60 ml) y se agitó durante 30 min antes de ser extraído en éter (2x50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron y concentraron y el sólido resultante se trituró con éter / petróleo, se aisló por filtración y se secó para dar el compuesto del título como un sólido crema (3,122 g, 73%)

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 8,04 (2H, s ancho), 7,53 (2H, m), 7,12,(1H, t, J 8,85Hz), 4,17 (2H, m), 3,67 (2H, m), 3,3 (3H, s); LC-MS rt 1,97 m/z 213 ES

Etapa 3: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(2-metoxi-etoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-(2-metoxietoxi)-fenilborónico (1,83g, 1,2eq), El Intermedio 2 (2,32g), carbonato de potasio (1,29 g, 1,2eq) en DMF / H_2O (3:1, 40 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (1%, 30 mg) y se agitó a temp. ambiente bajo N_2 durante 4 h. La mezcla se diluyó con agua (100 ml) y se filtró, luego se extrajo con EtOAc (2x50 ml) y estos extractos orgánicos se añadieron a la torta de filtro, se secaron y se concentraron. El

residuo se disolvió en DCM, se cargó sobre una columna de sílice corta y se eluyó a porciones bajo succión con DCM/EtOH/NH_3 400-200:8:1. Bajo la concentración, esto dio un aceite marrón que se trituró con DCM/ éter/ petróleo y bajo la cristalización se diluyó con más petróleo (60 ml). El compuesto del título se aisló por filtración como un sólido crema (1,665 g, 63%)

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,74 (1H, d, J 1,9Hz), 7,7(1H, s), 7,60 (1H, dd, J 8,85, 1,9Hz), 7,29 (3H, m), 7,1,(1H, d, J 8,2Hz), 7,05 (1H, d, J8,85Hz), 4,28 (2h, m), 3,84 (2H, m), 3,52 (3H, s), 3,16 (3H, s), 3,14 (3H, s); LC-MS rt 2,32 m/z 342 ES+

Intermedio 23: N'-(3-Ciano-3',4'-dimetoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Se trataron el Intermedio 4 (2,52 g, 10 mmol) y el ácido 3,4-dimetoxifenilo borónico (1,9 g, 1,2eq) en iPrOH (30 ml) con carbonato sódico acuoso 2N (10 ml) y tetraquis-(trifenilfosfina) paladio (0) (5 mg, 0,04mol%) y se calentó con agitación a 60°C. Después de 2 horas la reacción se mostró que estaba casi un 80% completa por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió entonces y se diluyó con agua (30 ml). El sólido resultante se filtró, se lavó con más agua (2x20 ml) hasta secarse por succión. El sólido se mezcló de nuevo dos veces en éter (2x5 ml) se succionó al vacío, y finalmente se secó para dar el Intermedio de bifenilo como un sólido blanquecino (2,24 g, 72%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 7,99 (1H, s) 7,91 (1H, d, J 1,9Hz), 7,79 (1H, dd, J 8,2, 1,9Hz), 7,2 (3H,m), 6,99 (1H, d, J 8,2Hz), 3,84 (3H, s), 3,78 (3H, s), 3,08 (3H, s) 3,01 (3H, s); LC-MS rt 2,31 m/z 309 ES

Intermedio 24: Ácido 1-(4-amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico

Una disolución del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-3- carboxílico (100 mg, 0,403 mM) en metanol (8 ml) se inyectó a un caudal de 1ml/min en un hidrogenador "the H-Cube" que combina la generación de hidrógeno endógeno con un sistema de cartucho desechable (Pd/C), la temperatura se ajustó hasta 25°C a presión atmosférica. La solución obtenida se concentró para dar un sólido blanco (82 mg, 93%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,72 (1H, s ancho), 8,59 (1H, s ancho), 7,42 (2H, d, J 8Hz), 7,23 (1H, d, J 8Hz), 6,99 (2H, d, J 8Hz), 6,70 (1H, d, J 8Hz), 2,48 (3H, s), 2,45 (3H, s).

Intermedio 25: Dimetilamida del ácido 1-(4-amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico.

Etapa1: Dimetilamida del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-[1,2,4]triozazol-3- carboxílico.

A una disolución del ácido 5-metil-1(4-nitrofenil)-1H-1,2-4-triazol-3- carboxílico (Key organics 400 mg, 1,61 mM) y base de Hunig (667 µl, 3,86 mM) en DCM:DMF (6 ml:1 ml) a -10°C se añadió gota a gota isobutilcloroformiato (250 µl, 1,93 mM). La reacción se agitó 30 min a -10°C luego se añadió lentamente una solución 2M de dimetilamina (965 µl, 1,93 mM). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La mezcla cruda se lavó con $NaHCO_3$ sat., se extrajo y se secó sobre $MgSO_4$, Después de la evaporación, el sólido amarillo obtenido se usó directamente en la siguiente reacción sin más purificación (412 mg, 93%). LC-MS rt 2,09 m/z 275 ES+

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,42 (2H, d, J 7Hz), 7,95 (2H, d, J 7Hz), 3,13 (3H, s), 3,03 (3H, s), 2,62 (3H, s).

Etapa 2: Dimetilamida del ácido 1-(4-Amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico.

Una disolución de metilamida del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-3- carboxílico de la etapa 1(100 mg, 0,36 mM) en metanol (8 ml) se inyectó a un caudal de 1ml/min en un hidrogenador "the H-Cube" que combina la generación de hidrógeno endógeno con un sistema de cartucho desechable (Pd/C), la temperatura se ajustó a 25°C a presión atmosférica. La solución obtenida se concentró para dar un sólido blanco (87 mg, 98%). LC-MS: rt 1,54 m/z 245 ES_+

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,71 (1H, s ancho), 8,54 (2H, d, J 7Hz), 7,12 (2H, d, J 7Hz), 3,13 (3H, s) 3,03 (3H, s), 2,62 (3H, s).

Ejemplo 1: 6-Yodo-quinazolin-4-il-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Se trató 4-cloro-6-yodoquinazolina (documento WO9609294 A1, 150 mg) con 4-triazolil-anilina (28 mg, 1 eq) en MeCN y se sometió a reflujo durante 6 h. Se enfrió toda la noche y se filtró para dar el compuesto del título (70 mg).

^{1}H RMN ™ 11,75 (1H, s ancho), 9,4 (2H; s), 9,04 (1H, s), 8,43 (1H, d, J 8,85Hz), 8,34 (1H, s), 8,0(4H, m), 7,82 (1H, d, J 8,85Hz); LC-MS rt 2,32 m/z 415 ES+.

Ejemplo 2: (6-terc-Butil-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una disolución del ácido 2-amino-5-terc-butilbenzoico (fuentes comerciales, 500 mg) y acetato de formamidina (404 mg) en EtOH (5 ml) se sometió a reflujo durante 18 h. La mezcla enfriada se filtró y el precipitado se levó con EtOH enfriado en hielo y se secó para dar el hidroxi quinazolina (394 mg) que se añadió a cloruro de tionilo (10 ml) y DMF (cat.) y se calentó a reflujo toda la noche. La mezcla enfriada se diluyó con EtOAc y se vertió sobre bicarbonato sódico sat. (ac). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró en un sólido marrón (327 mg), de cual se trató una porción (105 mg) inmediatamente con 4-triazolilanilina (125 mg) en MeCN (4 ml) a reflujo toda la noche. La mezcla enfriada se dividió entre DCM y bicarbonato sódico y la fase orgánico se concentró. La purificación por cromatografía con DCM: EtOH:NH_3 (200:8:1) como eluyente dio el compuesto deseado.

^{1}H RMN ™ 10,16 (1H, s), 9,48 (1H, s), 8,77 (1H, s), 8,62 (1H, s), 8,41 (1H, d), 8,2 (4H, m), 7,95 (1H, d), 1,64 (9H, s); LC-MS rt 2,18 m/z 343 ES-.

Ejemplo 3: [7-(3-Cloro-propoxi)-6-metoxi-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-ilo fenil)amina

Se calentaron N'-[5-(3-cloro-propoxi)-2-ciano-4-metiloxi-fenil]-N,N-dimetil-formamidina (documento WO0305549, 580 mg), 4-(1,2,4-triazolil)anilina (314 mg) y AcOH (4 mL) a 90° durante 1 hr antes de enfriar. El aceite se concentró y la mezcla resultante se disolvió en MeOH, se sonicó y el polvo blanco resultante se filtró y se secó para producir el compuesto del título (765 mg).

^{1}H RMN ™ 9,65 (s, 1H), 9,25 (s, 1H), 8,5 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,02 (d, 2H, J 9Hz), 7,89 (s, 1H), 7,87 (d, 2H, J=9), 7,24 (s, 1H), 4,28 (t, 2H, J=6), 3,95 (s, 3H), 3,83 (t, 2H, J 6Hz), 2,27 (q, 2H, J 6Hz); LC-MS rt 2,13 m/z 411 ES+.

Ejemplo 4: [6-Metoxi-7-(3-morfolin-4-il-propoxi)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Se calentaron a 90° el Ejemplo 3 (118,6 mg, 0,289 mmol), morfolina (120 μL) y dimetilacetamida (1,1 mL) durante 12 hr antes de enfriar, concentrando y purificando el aceite resultante por cromatografía de columna con 200:8:1, DCM: MeOH:NH_3 como eluyente. El aceite se recristalizó con MeCN produciendo el compuesto del título como cristales incoloros, (126 mg).

^{1}H RMN ™ 9,55 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,80 (d, 2H, J8,9) 7,35 (s, 1H), 7,19 (d, 2H, J=8,9), 4,38 (t, 2H, J 6Hz), 4,15 (s, 3H), 4-3,92 (m, 4H), 3,83-3,75 (m, 4H), 3,36-3,28 (m, 4H); LC-MS rt 1:78 m/z 462 ES+.

Ejemplo 5: [6-(3,4-Difluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(3-Ciano-3',4'-difluoro-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3,4-difluorofenil-borónico (Lancaster, 396 mg, 1,5 eq), el Intermedio 2 (500 mg) y tetraquis (trifenilfosfina)paladio (0) (5%, 96 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (aq, 2:1,13,5 ml) a reflujo durante 16 h. La mezcla se concentró, el residuo se lavó con agua y éter y se secó para dar un sólido marrón claro (386 mg, 81 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,57 (1H, d, J = 2Hz), 7,54 (1H, s), 7,45 (1H, dd, J = 8,5, 2,25Hz), 7,13 (3H, m), 6,90 (1H, d, J = 8,5Hz), 3,0 (3H, s), 2,99 (3H, s); LC-MS rt 2,51; m/z 286 ES+.

Etapa 2: [6-(3,4-Difluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la Etapa 1 (150 mg) y 4-triazolil-anilina (88 mg, 1eq) en AcOH (2 ml) se calentó a 80°C durante 16 h. Se enfrió, concentró y se trató con cuidado con bicarbonato sódico (ac). El sólido resultante se aisló mediante filtración, se lavó con agua, luego se añadió DCM:EtOH:NH_3 (20:8:1) y se filtró de nuevo. El filtrado se concentró hasta que se formó un precipitado que se filtró, se lavó con éter y se secó para dar el compuesto del título (82 mg, 34 %).

^{1}H RMN ™ 10,0 (1H, s), 9,18 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,54 (1H, s), 8,12 (2H, m), 7,97 (1H, m), 7,92 (2H, m), 7,78 (3H, m), 7,66 (1H, m), 7,53 (1H, m); LC-MS rt 2,52 m/z 401 ES+.

Ejemplo 6: [6-(4-Cloro-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(4'-Cloro-3-ciano-3'-fluoro-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 4-cloro-3-fluorofenilo borónico (Combiblocks, 759 mg, 1,3 eq), el Intermedio 2 (1 g) y tetraquis(trifenilfosfina) paladio (0) (5 %, 193 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1, 27 ml) a reflujo durante 16 h. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró, el residuo se lavó con bicarbonato sódico sat., agua y éter y se secó para dar el producto (310 mg)

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,58 (1H, d, J 2,0Hz), 7,53 (1H, s), 7,46 (1H, dd, J 8,5, 2,25Hz), 7,31 (1H, t, J 8,0Hz), 7,14 (1H, m), 7,12 (1H, m), 6,9 (1H, d, J 8,5Hz), 3,0 (3H, s), 2,98 (3H, s); LC-MS rt 2,70 ; m/z 302 ES+.

Etapa 2: [6-(4-Cloro-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

Una mezcla de formamidina de la Etapa 1 (300 mg) y 4-triazolil-anilina (167 mg, 1 eq) en AcOH (3 ml) se calentó a 80°C durante 2 h. Se enfrió, y el sólido resultante se aisló mediante filtración, se lavó con bicarbonato sódico, agua y MeCN. El sólido se purificó por cromatografía de columna sobre gel de sílice con DCM:EtOH:NH_3 (400:8:1 a 200:8:1) como eluyente para dar el compuesto del título.

^{1}H RMN ™ 10,36 (1H, s ancho), 9,29 (1H, s), 8,93 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,25 (2H, m), 8,03 (3H, m), 7,86 (2H, d, J 9,25Hz), 7,81 (3H, m); LC-MS rt 2,61 m/z 418 ES+.

Ejemplo 7: [6-(3-Fluoro-4-metoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(3-Ciano-3'-fluoro-4'-metoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-metoxifenil-borónico (Aldrich, 427 mg, 1,5 eq), el Intermedio 2 (500 mg) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (5 %, 96 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1,13,5 ml) a reflujo durante 16 h. La mezcla se concentró, el residuo se lavó con agua y éter y se secó para dar un sólido marrón claro (436 mg, 88 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,71 (1H, d, J = 2,25Hz), 7,67 (1H, s), 7,59 (1H, dd, J = 9,12 2,25Hz), 7,32 (1H, m), 7,27 (1H, m), 7,05 (2H, m), 3,96 (3H,s), 3,14 (3H, s), 3,12 (3H, s); LC-MS rt 2,33 m/z 298 ES+.

Etapa 2: [6-(3-Fluoro-4-metoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la Etapa 1 (200 mg) y 4-triazolil-amidina (112 mg, 1 eq) en AcOH (2 ml) se calentó a 80°C durante 16 h. Se enfrió, concentró y se trató con cuidado con bicarbonato sódico (ac). El sólido resultante se aisló mediante filtración, se lavó con agua, luego se añadió DCM:EtOH:NH_3 (20:8:1) y se filtró de nuevo. El filtrado se concentró hasta que se formó un precipitado que se filtró, se lavó con éter y se secó para dar el compuesto del título (129 mg, 47%).

^{1}H RMN ™ 10,06 (1H, s), 9,29 (1H, s), 8,81 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,23 (2H, m), 8,07 (2H, d, J 10,0Hz), 7,93 (1H, s), 7,88 (2H, m), 7,83 (1H, m); 7,73 (1H, d, J 7,50Hz), 7,35 (1H, t, J 8,75Hz), 3,92 (3H, s); LC-MS rt 2,42 m/z 413 ES+.

Ejemplo 8: [6-(4-Etoxi-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(3-Ciano-4'-etoxi-3'-fluoro-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 4-etoxi-3-fluorofenilo borónico (Combiblocks, 800 mg, 1,3 eq), Intermedio 2 (1g) y tetraquis(trifenilfosfina) paladio (0) (5 %, 193 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1, 27 ml) a reflujo durante 16h. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró, el residuo se lavó con bicarbonato sódico sat., agua y éter y se secó para dar el producto (410 mg).

^{1}H RMN ™ 7,71 (1H, d, J = 2,0Hz), 7,67 (1H, s), 7,60 (1H, dd, J = 8,5 2,25Hz), 7,31 (1H, m), 7,25 (1H, m), 7,02 (2H, m), 4,17 (2H, q, 7,0Hz), 3,14 (3H, s), 3,12 (3H, s), 1,5 (3H, t, 7,0Hz); LC-MS rt 2,51 m/z 312 ES+.

Etapa 2: [6-(4-Etoxi-3-fluoro-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de formamidina de la Etapa 1 (400 mg) y 4-triazolil-anilina (214 mg, 1 eq) en AcOH (3 ml) se calentó a 80°C durante 2 h. Se enfrió, y el sólido resultante se aisló mediante filtración, se lavó con bicarbonato sódico, agua y MeCN y se secó para dar el compuesto del título puro.

^{1}H RMN ™ 10,27 (1H, s ancho), 9,29 (1H, s), 8,86 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,26 (1H, s), 8,22 (1H, dd, J 8,75 2,5Hz), 8,10 (2H, d, J 7,50Hz), 7,88 (4H, m), 7,72 (1H, d, 7,5Hz), 7,34 (1H, t, 7,5Hz), 4,21 (2H, q, 7,5Hz), 1,41 (3H, t, 7,5Hz); LC-MS rt 2,53 m/z 427 ES+.

Ejemplo 9: {6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: 4-Bromo-2 fluoro-1-(2-metoxi-etoxi)-benceno

Una mezcla de 4-fluorofenol (9,8 ml), carbonato potásico en polvo (2 eq, 24 g) y bromoetil-metil-éter (1,1 eq, 20,16 ml) en acetona (60 ml) se calentó a reflujo durante toda la noche. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con agua y se extrajo en EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con carbonato sódico acuoso, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para dar el producto como un aceite móvil (22 g, cuantitativo).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,14 (2H, m), 6,84 (1H, t, J 8,85Hz), 4,09 (2H, m), 3,69 (2H, m), 3,38 (3H, s); LC-MS rt 2,67 m/z no ion.

Etapa 2: Ácido 3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenilborónico

A una disolución de 4-bromo-2-fluoro-1-(2-metoxi-etoxi)-benceno (4,98 g) en THF (40 ml) se añadió un pequeño cristal de yodo y luego Mg (730 mg, 1,5 eq) a porciones. Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla gris se enfrió a -78°C, se añadió trimetilborato (1,2 eq, 2,25 ml) y se dejó calentarse toda la noche. Se añadió HCl 1N (ac, 60 ml) y se agitó durante 30 min antes de ser extraído en éter (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron y el sólido resultante se trituró con éter / petróleo, se aisló por filtración y se secó para dar el compuesto del título como un sólido crema (3,122 g, 73 %).

^{1}H RMN ™ 8,04 (2H, s ancho), 7,53 (2H, m), 7,12 (1H, t, J 8,85Hz), 4,17 (2H, m), 3,67 (2H, m), 3,3 (3H, s); LC-MS rt 1,97 m/z 213 ES-.

Etapa 3: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(2-metoxi-etoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-(2-metoxietoxi)-fenilborónico (1,83 g, 12 eq), Intermedio 2 (2,32 g), carbonato potásico (1,29 g, 1,2 eq) en DMF / H_2O (3:1, 40 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (1 %, 30 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante 4 h. La mezcla se diluyó con agua (100 ml) y se filtró, luego se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml) y estos extractos orgánicos se añadieron a la torta de filtro, se secaron y se concentraron. El residuo se disolvió en DCM, se cargó sobre una columna de sílice corta y se eluyó a porciones bajo succión con DCM/EtOH/NH_3 400-200:8:1, En la concentración, esto dio un aceite marrón que se trituró con DCM/ éter/ petróleo y bajo la cristalización diluida con más petróleo (60 ml). El compuesto del título se aisló por filtración como un sólido crema (1,665 g, 63 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) 8 7,74 (1H, d, J 1,9Hz), 7,7(1H, s), 7,60 (1H, dd, J 8,85, 1,9Hz), 7,29 (3H, m), 7,1 (1H, d, J 8,2Hz), 7,05 (1H, d, J8,85Hz), 4,28 (2h, m), 3,84 (2H, m), 3,52 (3H, s), 3,16 (3H, s), 3,14 (3H, s); LC-MS rt 2,32 m/z 342 ES+.

Etapa 4: {6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de formamidina de la Etapa 3 (594 mg) y 4-triazolil-anilina (279 mg, 1 eq) en AcOH (6 ml) se calentó a 125° durante 2 h. Bajo enfriamiento y dilución con agua (20 ml), se aisló un precipitado amarillo mediante filtración, se mezcló con NaOH 1N y se lavó con agua. Después de secar, este material se trituró con MeOH / agua/ acetona ~ 10:5:5 para dar, después de la filtración y el secado, un sólido palo crema (510 mg, 64%).

^{1}H RMN ™ 10,1 (1H, s ancho), 9,27(1H, s), 8,8 (1H, s), 8,58 (1H, s), 8,24(1H, s), 8,18 (1H, d, J 8,85Hz), 8,03 (2H, d, J8,85Hz), 7,84 (4H, m), 7,68 (1H, d, J9,5Hz), 7,35 (1H, t, J 8,85Hz), 4,26 (2H, m), 3,72 (2H, m), 3,35 (3H, oscurecido por H_2O); LCMS rt 2,4 m/z 457 ES+.

Ejemplo 10: [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(3-Ciano-3',4'-dimetoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Intermedio 4 (2,52 g, 10 mmol) y ácido 3,4-dimetoxifenil-borónico (1,9 g, 1,2 eq) en iPrOH (30 ml) se trataron con carbonato sódico acuoso 2N (10 ml) y tetraquis-(trifenilfosfina) paladio (0) (5 mg, 0,04 mol%) y se calentó con agitación a 60°C. Después de 2 horas la reacción se mostró que era aprox. 80 % completo por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió entonces y se diluyó con agua (30 ml). El sólido resultante se filtró, se lavó con más agua (2 x 20 ml) antes de secar por succión. El sólido se re-mezcló dos veces en éter (2 x 5 ml), se secó por succión, y finalmente se secó para dar el Intermedio de bifenilo como un sólido blanquecino (2,24 g, 72 %).

^{1}H RMN ™ 7,99 (1H, s) 7,91 (1H, d, J 1,9Hz), 7,79 (1H, dd, J 8,2, 1,9Hz), 7,2 (3H, m), 6,99 (1H, d, J 8,2Hz), 3,84 (3H, s), 3,78 (3H, s), 3,08 (3H, s) 3,01 (3H, s); LC-MS rt 2,31 m/z 309,

Etapa 2: [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

La formamidina de la etapa 1 (2,96 g, 9,6 mmol) y 4-triazolilanilina (1,54 g, 9,6 mmol) en AcOH (10 ml) se calentaron a reflujo durante 3 h. La disolución enfriada se diluyó con éter (200 ml) y el precipitado resultante se filtró. La torta de filtro se lavó con éter, se secaron bajo succión, luego se mezclaron con NaOH 2N (100 ml) con agitación durante 30 minutos. El sólido resultante se aisló de nuevo mediante filtración, se lavó con agua y se secó para dar un sólido amarillo palo (3,81 g, 93 %).

^{1}H RMN ™10,11 (1H, s), 9,30 (1H, s), 8,80 (1H, s), 8,65 (1H, s), 8,26 (1H, s), 8,23 (1H, s), 8,10 (2H, d, J 10Hz), 7,92 (2H, d, J 10Hz), 7,88 (1H, d, J7,5Hz), 7,47 (2H, sobrelapante s), 7,16 (1H, d, J7,5Hz), 3,93 (3H, s), 3,85 (3H, s); LC-MS rt 2,17 m/z 425 ES+.

Ejemplo 11: [6-(1,3,4-Dietox-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla del Intermedio 8 (200 mg) y del Intermedio 6 (490 mg) se combinó con tetraquis(trifenilfosfina) paladio (0) (95 mg) en DME (3 ml) y carbonato sódico (1 ml) y se calentó a 100° toda la noche. La mezcla enfriada se diluyó con agua y se extrajo en DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se concentraron y se purificaron parcialmente por cromatografía de columna con CH_2Cl_2/EtOH/ NH_3 (200:8:1) para dar el material acoplado. Una porción de este material (70 mg) se calentó en ácido acético (1 ml) con 4-triazolilanilina (37 mg) a 80°C aprox. 1 h. La mezcla se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ sat. y el precipitado resultante se aisló por filtración y se lavó con agua y éter, se secó, luego se lavó con EtOAc, MeCN, después éter y se secó para dar el compuesto del título (32 mg, 34 %).

^{1}H RMN ™ 10,4 (1H, s ancho), 9,27 (1H, s), 8,82 (1H, s), 8,6 (1H, s), 8,23 (1H, s), 8,16 (2H, d, J 8,85Hz), 7,95 (2H, d, J 8,85Hz), 7,44 (2H, m), 7,13 (1H, d, J 8,2Hz), 4,15 (4H, m), 1,37 (6H, m); LC-MS rt 2,44, m/z 453 ES+.

Ejemplo 12: {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-[3-Ciano-4'-(2-dimetilamino-etoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

El ácido 4-(2-dimetilamino-etoxi)-borónico (preparado como por C. Zhou y R. C. Larock, *Journal of Organic Chemistry*, Vol. **70**, No. 10, pp 3765, 915 mg, 1,2 eq), Intermedio 2 (934 mg), y carbonato potásico (1,2 eq, 520 mg) en DMF/H_2O (3:1, 20 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (1 %, 12 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante 4 h. La mezcla se concentró y se dividió entre agua y EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron antes de ser cargadas sobre un SPE (20 g, Si) y se eluyó a porciones bajo succión con un gradiente DCM - DCM/EtOH/NH_3 -200:8:1, Bajo la concentración, esto dio un aceite marrón (1,0 g, cuant).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,71 (1H, d, J2,5Hz), 7,64 (1H, s), 7,6 (1H, dd, J8,2, 2,5Hz), 7,44 (2H, d, 8,2Hz), 6,98 (3H, m), 4,1 (2H, m), 3,11 (3H, s), 3,08 (3h, s) 2,75 (2H, m), 2,29 (6H,s); LC-MS rt 1,71 m/z 337 ES+.

Etapa 2: {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la etapa 1 (528 mg) y 4-triazolilanilina (294 mg) en AcOH (5 ml) se calentó a 125°C durante 3 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó y se basificó con NaOH 1N (80 ml). El precipitado crema resultante se aisló mediante filtración, y se secó para dar el compuesto del título (495 mg, 70%).

^{1}H RMN ™ 10,3 (1H, s ancho), 9,34 (1H, s), 8,9 (1H, s), 8,67 (1H, s), 8,31 (1H, s), 8,23 (1H, dd, J 8,85, 1,9Hz), 8,15 (2H, d, J 8,85Hz), 7,92 (4H, m), 7,19 (2H, d, J 8,85Hz), 4,2 (2H, m), 2,72 (2H, m), 2,3 (6H, s); LC-MS rt 1,96 m/z 452 ES+.

Ejemplo 13: {6-[4-Piridin-4-ilmetoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: 4-Amino-4'-(piridin-4-ilmetoxi)-bifenil-3-carbonitrilo

Una mezcla del Intermedio 5 (835 mg, 1,5 eq), Intermedio 7 (710 mg) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (5 %, 263 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1, 15 ml) a 80°C durante 16 h. La preparación acuosa entre agua y EtOAc dio un residuo que se purificó por HPLC (35 g Si, 10-100 % EtOAc en elución de gradiente de petróleo aprox. 30 min). Esto dio, bajo concentración, el compuesto del título (310 mg, 45%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 8,63 (2H, m), 7,5 (2H, m), 7,38 (3H, m), 6,99 (2H, d, J 8,65Hz), 6,79 (1H, d, J 8,65Hz), 5,127 (2H, s), 4,42 (2H, s ancho).

Etapa 2: {6-[4-Piridin-4-ilmetoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenil)-amina

El Intermedio de la Etapa 1 (310 mg) se trató con DMF-DMA (5 ml) en DMF (3 ml) a 80°C durante 3 h. La mezcla se evaporó, se disolvió en tolueno y se concentró en un sólido amarillo palo que se secó toda la noche. Una porción de este material (74 mg) se trató con 4-triazolilanilina (57 mg) en AcOH (1 ml) a 80° durante 2 h. La mezcla enfriada se basificó con bicarbonato sódico ac. y el precipitado resultante se filtró, se lavó con agua, éter y MeCN para dar el compuesto del título (88 mg, 59 %).

^{1}H RMN ™ 10,5 (1H, s ancho), 9,26 (1H, s), 8,87 (1H, s), 8,59 (3H, m), 8,23 (1H, s), 8,1 (3H, m), 7,84 (5H, m) 7,47 (5H, m), 7,18 (2H, m), 5,29 (2H, s); LC-MS rt 2,23 m/z 472 ES+.

Ejemplo 14: [6-(4-Morfolin-4-il-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(3-Ciano-4'-morfolin-4-il-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 4-morfolinilfenil-borónico (Maybridge, 992 mg, 1,5 eq), el Intermedio 2 (955 mg) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (5 %, 185 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1,12 ml) a 90° durante 16 h. La preparación acuosa entre agua y EtOAc dio un residuo marrón que se purificó mediante SPE (Si, 20 g) con una elución en porciones bajo succión con DCM/EtOH/NH_3 600-200:8:1, Esto dio que se trituró con DCM / petróleo y se filtró para dar un sólido marrón claro (430 mg, 40%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,45 (3H, m), 7,29 (2H, d, J 8,85 Hz), 6,81 (3H, m), 3,71 (4H, m), 3,03 (4H, m), 2,94 (3H, s), 2,91 (3H, s); LC-MS rt 2,16 m/z 335 ES+.

Etapa 2: [6-(4-Morfolin-4-il-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la etapa 1 (76 mg) y 4-triazolilanilina (24 mg) en AcOH (2 ml) se calentó a 125°C durante 1 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó y se basificó con NaOH 1N (20 ml). El precipitado resultante se aisló mediante filtración, se lavó con DCM, luego se trituró con MeOH /acetona. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (22 mg) como un sólido verde claro.

^{1}H RMN ™ 10,45 (1H, s ancho), 9,3 (1H, s), 8,88 (1H, s), 8,6 (1H, s), 8,26 (1H, s), 8,14 (3H, m), 7,87 (5H, m), 7,12 (2H, d, J 8,85Hz), 3,78 (4H, m), 3,21 (4H, m) ; LC-MS rt 2,28 m/z 450 ES+.

Ejemplo 15:[6-(2,3-Dihidro-[1,4]dioxin-6-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-[2-Ciano-4-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)-fenil]-N,N-dimetil-formamidina

Se calentó el ácido 1,4-(etilendioxi)benceno-6-borónico (Lancaster, 785 mg, 1,2 eq), el Intermedio 2 (1,08 g) y tetraquis (trifenilfosfina)paladio (0) (205 mg) en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1,12 ml) a 80°C durante 18 h. La preparación acuosa entre agua y EtOAc dio un sólido marrón que se purificó mediante SPE (Si, 20 g) con una elución en porciones bajo succión con DCM/EtOH/NH_3 600-200:8:1, Esto dio un sólido marrón claro (430 mg, 41 %).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,68 (1H, d, J 2,5Hz), 7,63(1H, s), 7,56 (1H, dd, J 8,2, 2,5Hz), 6,96 (4H, m), 4,29 (4H, s), 3,1 (3H, s), 3,08 93H, s). LC-MS rt 2,22 m/z 308 BS+.

Etapa 2: [6-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la etapa 1 (304 mg) y 4-triazolilanilina (75 mg) en AcOH (2 ml) se calentó a 125° durante 1,5 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó y se basificó con NaOH 1N (20 ml). El precipitado resultante se aisló por filtración y se secó para dar el compuesto del título (136 mg, 71 %) como un sólido amarillo.

^{1}H RMN ™ 10,07 (1H, s), 9,28 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,62 (1H,s), 8,25 (1H, s), 8,16 (1H, d, J 8,85Hz), 8,07 (2H, d, J 8,85Hz), 7,86 (2H, d, J 8,85Hz), 7,82 (1H, d, J 8,85Hz), 7,47 (1H, d, J 1,9Hz), 7,38 (1H, dd, J 8,2,1,9Hz), 7,03 (1H, d, J 8,85Hz) 4,32 (4H, s); LC-MS rt 2,35 m/z 423 ES+.

Ejemplo 16: [6-(2-Metoxi-pirimidin-5-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: 2-Amino-5-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-benzonitrilo

Una mezcla del Intermedio 3 (602 mg), ácido 2-metoxipirimidin-5-borónico (Frontier, 1,5 eq, 706 mg), y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (352 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1, 20 ml) a 100°C durante 12 h. La preparación acuosa entre agua y EtOAc dio un sólido marrón que se purificó por SPE (Si, 20 g) por elución con DCM (4x10 ml), luego EtOAc (4x10 ml), para dar un sólido que se trituró con DCM / petróleo, y se filtró para dar un sólido marrón claro (660 mg).

^{1}H RMN ™ 8,85 (2H, s), 7,8 (1H, s), 7,6 (>3H, m), 6,88 (1H, d, J 8,85Hz), 6,3 (2H, s), 3,93 (3H, s); LC-MS rt 2,39 m/z 226 ES-.

Etapa 2: [6-(2-Metoxi-pirimidin-5-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

El producto de la etapa 1 (645 mg) se calentó en DMF-DMA (4 ml) durante 2 h. Bajo enfriamiento, la mezcla se concentró y se trituró con éter / petróleo para dar la formamidina como un sólido (664 mg). Una porción de este

material (56 mg) se trató con 4-triazolil-anilina (35 mg) en AcOH (1,5 ml) a 100°C durante 2 h, se enfrió y diluyó con agua (25 ml). Se basificó NaOH, se filtró y el sólido se secó para dar el compuesto del título (66 mg).

^{1}H RMN ™ 10,04 (1H, s), 9,24 (1H, s), 9,13 (2H, s), 8,86 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,25 (2H, m), 8,04 (2H, m), 7,89 (3H, m), 3,99 (3H, s); LC-MS rt 2,32 m/z 395 ES-.

Ejemplo 17:(6-Tiofen-2-il-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: N'-(2-Ciano-4-tiofen-2-il-fenil)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del Intermedio 2 (2 g), cloruro de litio (1,42 g), diclorobis-(trifenilfosfina) paladio (II) (0,235 g) y 2-(tributilstanil)tiofeno (2,74 g) en tolueno (40 ml) se calentó a 120°C durante 24 h. La mezcla de reacción enfriada se concentró y se cargó sobre una columna de gel de sílice y se eluyó con DCM:MeOH (2,5 %) para dar el compuesto del título (0,4 g).

^{1}H RMN ™ 8,02 (1H, s), 7,88 (1H, d, J 1,9Hz), 7,74 (1H, dd, J 8,85, 2,5Hz), 7,52(1H, s), 7,50 (1H, s), 7,2 (1H, d, J 8,85Hz), 7,11 (1H, t, J 4,4Hz), 3,09 (3H, s), 3,0 (3H, s); LC-MS rt 2,32 m/z 256 ES+.

Etapa 2: (6-Tiofen-2-il-quinazolin- 4-il)-(4-[1,2,4] triazol- 1-il- fenil)-amina

Una mezcla de la formamidina de la Etapa 1, (151 mg) y 4-triazolilanilina(100 mg) en AcOH (5 ml) se calentó a 125°C durante 3 h. La mezcla de reacción enfriada se basificó con NaOH 2N y el precipitado se aisló por filtración y se purificó por cromatografía de columna sobre gel de sílice con DCM:MeOH (2,5%) como eluyente. Esto dio el compuesto del título (200 mg).

^{1}H RMN ™ 10,1 (1H, s), 9,3 (1H, s), 8,83 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,26 (1H, s), 8,19 (1H, d, J 8,85Hz), 8,07 (2H, d, J 8,85Hz), 7,92 (2H, d, J 8,85Hz), 7,85 (1H, d, J 8,85Hz), 7,76 (1H, d, J 2,5Hz), 7,70 (1H, d, J 5Hz), 7,27 (1H, m); LC-MS rt 2,39 m/z 369 ES-.

Ejemplo 18: [6-(4-Metil-tiofen-2-il)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa 1: 2-Amino-5-(4-metil-tiofen-2-il)-benzonitrilo

Una mezcla del Intermedio 3 (1 g), ácido 4-metil-2-tienilborónico (Acros, 2 eq, 1,44 g), y tetraquis(trifenilfosfina) paladio (0) (586 mg) se calentó en DME / carbonato sódico 2N (ac, 2:1, 30 ml) a 100°C durante 2,5 h. La preparación acuosa entre agua y EtOAc dio un sólido marrón que se trituró con DCM/petróleo, se filtró y se lavó con éter para dar un sólido marrón claro (865 mg, 80 %).

^{1}H RMN ™ 7,6 (1H ,d, J 2,52Hz), 7,54 (1h, dd, J 8,85, 2,5Hz), 7,16 (1H, s), 6,98 (1H, s), 6,80 (1H, d, J 8,85Hz), 6,25 (2H, s ancho), 2,19 (3H, s); LC-MS rt 2,91 m/z 215 ES+.

Etapa 2: N'-[2-Ciano-4-(4-metil-tiofen-2-il)-fenil]-N,N-dimetil-formamidina

El producto de la etapa 1 (850 mg) se calentó en DMF-DMA (1,32 ml) durante 1,5 h. Bajo enfriamiento, la mezcla se diluyó con éter, se filtró y se lavó con más éter para dar la formamidina como un sólido gris (564 mg). Una porción de este material (54 mg) se trató con 4-triazolil-anilina (35 mg) en AcOH (1,5 ml) a 100°C durante 2 h, se enfrió y diluyó con agua (25 ml). Se basificó con NaOH, se filtró y el sólido se secó para dar el compuesto del título (54,4 mg, 70 %).

^{1}H RMN ™ 10,0 (1H, s), 9,18 (1H, s) 8,67 (1H, s), 8,51 (1H, s), 8,14 (1H, s), 8,0 (3H, m), 7,8 (2H, d), 7,72 (1H, d, J 8,85Hz), 7,48 (1H, s), 7,15 (1H, s), 2,2 (3H, s); LC-MS rt 2,72 m/z 385 ES+.

Ejemplo 19: (6-Furan-2-il-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Etapa1: N'-(2-Ciano-4-furan-2-il-fenil)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del Intermedio 2 (1 g), cloruro de litio (0,71 g), diclorobis(trifenilfosfina) paladio (II) (0,717 g) y 2-(tributilstanil)furano (1,31 g) en tolueno (25 ml) se calentó a 90°C durante 24 h. La mezcla de reacción enfriada se concentró y se cargó sobre una columna de gel de sílice y se eluyó con DCM, seguido de DCM: MeOH (2,5 %) para dar el producto (0,32 g).

^{1}H RMN ™ 8,05(1H, s), 7,91 (1H, d, J 1,9Hz), 7,8 (1H, dd, J 8,85,1,9Hz), 7,73 (1H, d, J 1,9Hz), 7,25 (1H, d, J 8,85Hz), 6,95 (1H, d, J 3,2Hz), 6,58 (1H, m), 3,1 (3H, s), 3,02 (3H, s); LC-MS rt 2,04 m/z 240 ES-.

Etapa2: (6-Furan-2-il-quinazolin-4-il)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

La formamidina de la Etapa 1 (100 mg) y 4-triazolilanilina (73 mg) en AcOH (3 ml) se calentaron a 125°C durante 3 h. La mezcla de reacción enfriada se concentró y se purificó por cromatografía de columna sobre gel de sílice con DCM: MeOH (2,5 %) como eluyente. Esto dio el producto (54 mg).

^{1}H RMN ™ 10,14 (1H, s), 9,28 (1H, s), 8,87 (1H, s), 8,62 (1H, s), 8,25 (2H, m), 8,06 (2H, m), 7,9 (4H, m), 7,16 (1H, m), 6,73 (1H, m); LC-MS rt 2,25 m/z 353 ES-.

Ejemplo 20: {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-3-fluoro-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

Etapa 1: [2-(4-Bromo-2-fluoro-fenoxi)-etil]-dimetil-amina.

Una solución de 4-bromo-2-fluorofenol (20 mmol, 2,19 ml) cloruro de dimetilaminoetilo.HCl (25 mmol, 3,6g), carbonato potásico en polvo (80 mmol), 11,06g) en etanol seco (200 ml) y tolueno seco (200 ml) se calentó a 80° toda la noche. La mezcla de reacción enfriada se concentró bajo el vacío y se dividió entre acetato de etilo y agua. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con carbonato sódico acuoso, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para dar el producto como un aceite amarillo. La purificación por cromatografía con DCM : EtOH : NH3 (200:8:1) como eluyente dio el compuesto deseado como un aceite palo (4,11 g, 78%).

Etapa 2: Ácido 3-fluoro-4-(2-dimetilamina-etoxi)-fenilborónico

A una disolución de [2-(4-bromo-2-fluoro-fenoxi)-etil]-dimetil-amina de la etapa 1 (4,1g) en THF (40 ml) se añadió un pequeño cristal de yodo y luego Mg (570 mg, 1,5eq) a porciones. Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 1h. La mezcla gris se enfrió a -78°C, se añadió trimetilborato (1,2eq., 2,1 ml) a gotas y se dejó calentarse toda la noche. Se añadió 1N HCl (ac., 60 ml) y se agitó durante 30 min antes de ser extraído en éter (2x50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron y el sólido resultante se trituró con acetona / éter, se aisló por filtración y se secó para dar el compuesto del título como un sólido marrón (2,6 g, 73%). El producto se usó crudo sin otra purificación.

Etapa 3: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(2-metoxi-etoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-(2-dimetilamina-etoxi)-fenilborónico (1,96 g, 1,2eq), el Intermedio 2 (2,14g), carbonato potásico (1,19 g, 1,2eq) en DMF / H_2O (3:1, 20 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (1%, 27 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante 2h. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y se filtró, luego se extrajo con acetato de etilo (2x50 ml) y estos extractos orgánicos se añadieron a la torta de filtro, se secaron y se concentraron en un sólido marrón. El residuo se disolvió en DCM, se cargó sobre una columna de sílice corta y se eluyó a porciones bajo succión con DCM / EtOH /NH_3 400-200:8:1, Bajo la concentración, esto dio un sólido beige (1,88 g, 74%). LC-MS rt 1,75 m/z 355 ES+.

Etapa 4: {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-3-fluoro-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

A una disolución de la formamidina de la Etapa 3 (250 mg, 0,73 mM) en ácido acético (2 ml) se añadió la 4-triazolilanilina (117 mg, 0,73 mM). La reacción se calentó a 125°C durante 2hr. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y se aisló mediante filtración. El sólido se purificó por columna (SiOH) con DCM: EtOH:NH_3 400-200:8:1 y se aisló como un sólido amarillo (258 mg, 75%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,06 (1H, s ancho), 9,29 (1H, s), 8,81 (1H, s) 8,63 (1H, s), 8,25 (2H, m), 8,09 (1H, s), 8,05 (1H, s), 7,83 (4H, m), 7,70 (1H, d, J 10Hz), 7,39 (1H, t, J 10Hz), 4,21 (2H, t, J 7,5Hz), 2,68 (2H, t, J 7,5Hz), 2,24 (6H , s). LC-MS rt 1,99 m/z 470 ES+.

Ejemplo 21: (6-Bromo-quinazolin-4-il)-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

Una solución agitada de N'-(4-bromo-2-ciano-fenil)-N,N-dimetil-formamidina (0,5 g, 2 mmol, 1eq) y 4-[1,2,4] triazol-1-il-fenilamina (0,32 g, 2 mmol, 1eq en ácido acético (4 mL) se calentó a reflujo durante 2 horas luego se dejó enfriar. Después de enfriar, la adición de dietiléter produjo un precipitado amarillo. El precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con dietiléter, luego se secó in vacuo para producir el compuesto deseado como la sal de acetato. (0,53g, 62%).

^{1}H-RMN (DMSOd_6) ™. 1,88 (s, 3H), 7,77 (d, 1H), 7,90 (d, 2H), 8,02 (dd, 1H), 8,08 (d, 2H), 8,25 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 9,29 (dd, 1H), 10,04 (s, 1H). LC-MS rt 2,30 m/z 368 ES+.

Ejemplo 22: N-(2-{2-fluoro-4-[4-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenilamino)quinazolin-6-il}etil)-N',N',N'-trimetiletano- 1,2-diamina

Una solución del Intermedio 11 (96 mg, 0,23 mmol, 1eq), y 4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)anilina (38 mg, 0,24 mmol, 1,05 mmol) en ácido acético (2 mL) se calentó a reflujo. Después de 1h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se concentró *in vacuo* y se trató con una solución acuosa saturada de K_2CO_3 hasta que acabó la efervescencia. La mezcla resultante se concentró luego *in vacuo* hasta secarse para proporcionar un residuo marrón. El residuo se purificó usando cromatografía de destello de columna, eluyendo inicialmente con 200:8:1 y luego 100:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3, El compuesto del título se aisló como un sólido blanquecino (48 mg, 40%). R_f = 0,39 (40:8:1 CH_2Cl_2:EtOH:NH_3).

^{1}H-RMN (DMSO-d_6) 2,11 (s, 6H), 2,17 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 2,68 (t, 2H), 4,08 (t, 2H), 7,23 (m, 1H), 7,56 (m, 1H), 7,75 (m, 3H), 7,93 (m, 2H), 8,08 (m, 2H), 8,50 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 9,92 (s ancho, 1H). LC-MS rt 2,08 m/z 527 ES+.

Ejemplo 23: [6-(3-Isopropoxi-4-metoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

A una disolución del Intermedio 18 (60 mg, 0,18 mmol) en ácido acético (1 ml) se añadió 4-triazolilanilina (35 mg, 0,22 mmol) y la solución se agitó a 80°C durante unas 2 horas. El análisis LCMS mostró consumo del material de partida. La mezcla de reacción se enfrió y el ácido acético en exceso se eliminó por evaporación bajo presión reducida. Los residuos se trataron con hidrogenocarbonato sódico sat. ac. Hasta que acabó la efervescencia. El

precipitado resultante se filtró y los sólidos obtenidos se secaron bajo el vacío. La purificación por cromatografía preparativa dio lugar al compuesto deseado como un sólido blanquecino (18 mg, 22%)

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 10,21 (1H, bs), 9,07 (1H, s), 8,57 (1H, s), 8,42 (1H, s), 8,04 (1H, s), 8,00 (1H, dd, J 8,75Hz, 1,5Hz), 7,90 (2H, d, J 9Hz), 7,72 (1H, s), 7,68 (2H, d, J 3,25Hz), 7,27 (2H, s), 6,96 (1H, d, J 9Hz), 4,53 (1H, quin, J 6Hz), 3,64 (3H, s), 1,12 (6H, d, J 6,25Hz) LC-MS rt 2,48 m/z 454 ES+.

Ejemplo 24: 6-(4-Fluoro-3-isopropoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

A una disolución del Intermedio 19 (95 mg, 0,29 mmol) en ácido acético (1 ml) se añadió 4-triazolilanilina (56 mg, 0,35 mmol) y la solución se agitó a 80°C durante unas 2 horas. El análisis LCMS mostro el consumo del material de partida. La mezcla de reacción se enfrió y el ácido acético en exceso se eliminó por evaporación bajo presión reducida. Los residuos se trataron con hidrogenocarbonato sódico sat. ac. hasta que acabó la efervescencia. El precipitado resultante se filtró y los sólidos obtenidos se secaron bajo el vacío. La purificación por cromatografía preparativa dio lugar al compuesto deseado como un sólido blanquecino (33 mg, 25%)

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 10,24 (1H, bs), 9,27 (1H, s), 8,82 (1H, s), 8,64 (1H, s), 8,36 (1H, s), 8,24 (1H, s), 8,22 (1H, dd, J 9Hz, 1,75Hz), 8,09 (2H, d, J 9Hz), 7,92 (3H, m), 7,64 (1H, dd, J 8,25Hz, 2Hz), 7,46 (1H, m), 4,87 (1H, quin, J 6Hz), 1,36 (6H, d, J 6Hz) LC-MS rt 2,66 m/z 441 ES+

Ejemplo 25: {6-[4-(2-Dimetilamino-etoxi)-3-fluorofenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

Etapa 1:4-Bromo-1-(3-cloro-propoxi)-2-fluoro-benceno

Una mezcla de 2-fluoro-4-bromofenol (162,6 mmol, 31,07g) carbonato potásico en polvo (731,7 mmol, 103 g), 1-bromo-3-cloropropano (270 mmol), 26,6 ml) en acetonitrilo (250 ml) se calentó a reflujo durante 3h. La mezcla de reacción enfriada se filtró a través de celite y se concentró bajo el vacío. Esto dio un aceite palo (43,5 g, 100%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 6,99 (2H, t, J 8,75Hz), 6,67 (1H, t, J 8,75Hz), 3,97 (2H, t, J 6,00Hz), 3,57 (2H, t, J 6,00Hz), 2,04 (2H, m).

Etapa 2: 1-[3-(4-bromo- 2 -fluoro-fenoxi)-propil]-pirrolidina

Una mezcla de 4-bromo-1-(3-cloro-propoxi)-2-fluoro-benceno de la etapa 1 (0,046 mM, 11,94 g) y pirrolidina (0,138 mM, 11,43 ml) en DMA (50 ml) se calentó a reflujo durante 48h. La mezcla de reacción enfriada se dividió entre acetato de etilo y $NaHCO_3$ saturado, Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se concentraron y se aisló un aceite marrón (13,5 g, 98%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,11 (2H, m), 6,79 (1H, t, J 8,75Hz), 4,01 (2H, t, J 6,25Hz), 2,52 (2H, t, J 7Hz), 2,42 (6H, m), 1,95 (3H, m), 1,69 (1H, m, oscurecido por H2O).

Etapa 3: Ácido 3-fluoro-4-(3-pirrolidina-1-il-propoxi)fenilborortico

Una solución de 1-[3-(4-bromo-2-fluoro-fenoxi)-propil]pirrolidina de la etapa 2 (5,31 g, 17,57 mmol) en THF (10 ml) se añadió a gotas a una mezcla agitada de Mg (640 mg, 1,5eq) en THF (2 ml) y un pequeño cristal de yodo. Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 3h. La mezcla gris se enfrió a -78°C, se añadió trimetilborato (1,2eq, 2,4 ml) a gotas y se dejó calentar toda la noche. Se añadió HCl 2N (ac, 60 ml) y se agitó durante 30 min antes de ser extraído en éter (2x50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron, se concentraron y el aceite marrón resultante se trituró con acetona / éter / petróleo, para dar un sólido marrón. El producto se usó crudo sin otra purificación.

^{1}H RMN (d_6-DMSO) ™ 8,08 (2H, s ancho), 7,55 (1H, t, J 8,75Hz), 7,15 (2H, m), 4,04 (2H, t, J 6,25Hz), 2,50 (3H, m), 2,45 (6H, m), 1,84 (3H, m).

Etapa 4: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(3-pirrolidin-1-il-propoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-(3-pirrolidina-1-il-propoxi)-fenilborónico (3,074 g, 2eq), el Intermedio 2 (1,72 g, 1eq), carbonato potásico (0,954 g, 1,2eq) en DMF / H_2O (3:1, 40 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (2%, 44 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante 18h. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x50 ml). Después de secar sobre sulfato de magnesio estas fases orgánicas se concentraron en una goma marrón. El residuo se disolvió en DCM, se cargó sobre una columna de sílice corta y se eluyó a porciones bajo succión con DCM/ EtOH/NH_3 200:8:1 a 50:8:1 para dar después de la concentración un sólido marrón claro (1,63g, 71%). LC-MS rt 1,99 m/z 395 ES+

Etapa 5: {6-[3-fluoro-4-(3-pirrolidin-1-il-propoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

A una disolución de formamidina de la Etapa 4 (257 mg, 0,653 mM) en ácido acético (3 ml) se añadió la 4-triazolilanilina (115 mg, 0,73 mM). La reacción se calentó a 125°C durante 1h. La mezcla se enfrió basificada con 15 ml de NaOH 2N y se extrajo con acetato de etilo. Después de secar sobre sulfato de magnesio estas fases orgánicas se concentraron en un sólido amarillo. El sólido se trituró con DCM / Et2O / petróleo y se aisló como un sólido amarillo (163 mg, 44%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,07 (1H, s ancho), 9,29 (1H, s), 8,83 (1H, s), 8,64 (1H, s) 8,26 (2H, m), 8,07 (2H, m), 7,85 (5H, m), 7,69 (1H, d, J 10Hz), 7,35 (1H, dd, J 10Hz, 5Hz), 4,22 (2H, t, J 7,5Hz), 2,46 (6H, m, oscurecido por H2O), 2,08 (2H, t, J 7,5Hz), 1,70 (4H , m). LC-MS rt 2,13 m/z 509 ES+.

Ejemplo 26: {6-[-3-fluoro-4-(3-morfolin-4-il-propoxi)- fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

Etapa 1: 4-Bromo-1 -(3-cloro-propoxi)-2-fluoro-benceno

Una mezcla de 2-fluoro-4-bromofenol (162,6 mmol, 31,07g), carbonato potásico en polvo (731,7 mmol, 103 g), 1-bromo-3-cloropropano (270 mmol, 26,6 ml) en acetonitrilo (250 ml) se calentó a reflujo durante 3h. La mezcla de reacción enfriada se filtró a través de celite y se concentró bajo el vacío. Esto dio un aceite palo (43,5 g, 100%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 6,99 (2H, t, J 8,75Hz), 6,67 (1H, t, J 8,75Hz), 3,97 (2H, t, J 6,00Hz), 3,57 (2H, t, J 6,00Hz), 2,04 (2H, m).

Etapa 2: 4-[3-(4-bromo-2-fluoro-fenoxi)-propil]-morfolina

Una mezcla de 4-bromo-1-(3-cloro-propoxi)-2-fluoro-benceno de la etapa 1 (0,038 mM,10,02g) y morfolina (0,114 mM,10,1 ml) en DMA (50 ml) se calentó a reflujo durante 48h. La mezcla de reacción enfriada se dividió entre acetato de etilo y $NaHCO_3$ saturado, Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se concentraron y se aisló un aceite marrón (12 g, 98%).

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,36 (1H, m), 7,32 (1H, m), 6,98 (1H, t, J 8,75Hz), 4,24 (2H, t, J 6,25Hz), 3,87 (4H, m), 2,62 (6H, m), 2,12 (2H, m). LC-MS rt 1,98 m/z 320 ES+

Etapa 3: Ácido 3-fluoro-4-(3-morfolina-1-il-propoxi)-fenilborónico

Una solución de 4-[3-(4-bromo-2-fluoro-fenoxi)-propil]-morfolina de la etapa 2 (5,08 g, 15,96 mmol) en THF (10 ml) se añadió a gotas a una mezcla agitada de Mg (582 mg, 1,5eq) en THF (2 ml) y un pequeño cristal de yodo. Después de la adición, la mezcla se calentó a 90° durante 1h. La mezcla gris se enfrió a -78°C, se añadió trimetilborato (1,2eq, 2,15 ml) a gotas y se dejó calentar toda la noche. Se añadió HCl 2N (ac, 60 ml) y se agitó durante 30 min antes de ser extraído en éter (2x50 ml). Después, se añadió trietilamina a la capa acuosa y se extrajo con acetato de etilo y éter. Las fases orgánicas combinadas se secaron, se concentraron para dar un aceite marrón (3,8 g, 84%). El producto se usó crudo sin otra purificación.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,08 (2H, s ancho), 7,55 (1H, t, J 8,75Hz), 7,15 (2H, m), 4,04 (2H, t, J 6,25Hz), 3,57 (4H, m), 2,37 (6H, m), 1,84 (2H, m). LC-MS: rt 1,95 m/z 284 ES+.

Etapa 4: N'-[3-Ciano-3'-fluoro-4'-(3-morfolin-1-il-propoxi)-bifenil-4-il]-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla del ácido 3-fluoro-4-(3-morfolina-1-il-propoxi)-fenilborónico (3,8 g, 1,5eq), el Intermedio 2 (2,67 g, 1eq), carbonato potásico (1,48 g, 1,2eq) en DMF / H_2O (3:1, 40 ml) se trató con dicloro(bis benzonitrilo) paladio (II) (2%, 68 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante 18h. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (2x50 ml). Después de secar sobre sulfato de magnesio estas fases orgánicas se concentraron en una goma marrón. El residuo se disolvió en DCM, se cargó sobre una columna de sílice corta y se eluyó a porciones bajo succión con DCM / EtOH / NH_3 200:8:1 para dar después de la concentración un sólido marrón móvil (3,16 g, 85%). El producto se solidificó en reposo.

^{1}H RMN ($CDCl_3$) ™ 7,79 (1H, s ancho), 7,42 (1H, m), 7,02 (1H, m), 6,79 (3H, m) 3,88 (2H, m), 3,49 (4H, m), 2,87 (2H, d, J 5,5Hz), 2,73 (3H, s), 2,66 (3H, s), 2,30 (5H, m), 1,75 (2H, m). LC-MS rt 1,91 m/z 411 ES+

Etapa 5: {6-[3-fluoro-4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)amina

A una disolución de formamidina de la Etapa 4 (429 mg, 1,045 mmol) en ácido acético (3 ml) se añadió la 4-triazolilanilina (184 mg, 1,15 mmol). La reacción se calentó a 125°C durante 1h. La mezcla se enfrió basificada con 15 ml de NaOH 2N y el precipitado resultante se aisló por filtración, luego se disolvió en DCM y se purificó por cromatografía de columna sobre sílice con DCM / EtOH / NH_3 400:8:1 hasta 50:8:1 para dar después de la concentración un sólido crema (136 mg, 25%). LC-MS rt 2,1 m/z 526 ES+.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,06 (1H, s ancho), 9,29 (1H, s), 8,82 (1H, s), 8,65 (1H, s) 8,21 (2H, m), 8,07 (2H, m), 7,83(4H, m), 7,69 (1H d, J 10Hz), 7,32 (1H, dd, J 10Hz, 5Hz), 4,17 (2H, t, J 7,5Hz), 3,58 (4H, t, J 2,5Hz), 3,34 (2H, m, oscurecido por H2O), 2,40 (4H, t, J 2,5Hz), 1,92 (2H, t, J 7,5Hz).

Ejemplo 27: [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina

A un tubo de carrusel se añadió la formamidina (ejemplo 10 etapa 1) (0,05 g, 0,16 mmol), el Intermedio 21 (0,031 g, 0,18 mmol) y AcOH (1,5 ml). La mezcla se dejó agitar a 120°C durante 3 hr. La mezcla se dejó enfriar y se concentró hasta su secado y se puso sobre una columna de sílice y se eluyó con MeOH al 2,5%: DCM. Se aisló un sólido blanco, 0,015 g, (21%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 9,69 (1H, s), 9,10 (1H, s), 8,54 (1H, s), 8,23 (1H, s), 8,06 (1H, s), 8,02 (1H, m), 7,69-7,24 (6H, m), 6,94 (1H, d, J = 8,85Hz), 3,71 (3H, s), 3,64 (3H, s), 2,11 (3H, s); LC-MS rt 2,18 m/z 438 ES+

Ejemplo 28: Ácido 1-(4-{6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3-carboxílico

A una disolución del Intermedio 22 (55 mg, 0,16 mM) en ácido acético (3 ml) se añadió el Intermedio 24 (42 mg, 0,19 mM). La reacción se calentó a 100°C durante 2hr. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y se aisló mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un sólido blanco (26 mg, 32%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,15 (1H, s ancho), 8,82 (1H, s), 8,56 (1H, s) 8,15 (1H, d, J 7,5Hz), 8,00 (2H, d, J 7,5Hz), 7,80 (2H, m), 7,68 (1H, d, J 7,5Hz), 7,56 (2H, d, J 7,5Hz), 7,32 (1H, t, J 7,5Hz), 4,27 (3H, s), 3,73 (3H, s); LC-MS: rt 2,31 m/z 512 ES-.

Ejemplo 29: Ácido 1-(4-{6-[3,4-Dimetoxi-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico

A una disolución del Intermedio 23 (50 mg, 0,16 mM) en ácido acético (3 ml) se añadió el Intermedio 24 (42 mg, 0,19 mM). La reacción se calentó a 100°C durante 2hr. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y se aisló mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un sólido blanco (27 mg, 34%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,11 (1H, s ancho), 8,82 (1H, s), 8,68 (1H s) 8,26 (1H, dd, J 10Hz, J 2,5Hz), 8,14 (2H, d, J 10Hz), 7,87 (1H, d, J 10Hz), 7,67 (2H, d, J 10Hz), 7,46 (2H, dd, J 10Hz, J 2,5Hz), 7,14 (1H,d, J 10Hz), 3,93 (3H, s), 3,85 (3H, s); LC-MS: rt 2,16 m/z 482 ES+.

Ejemplo 30: Dimetilamida del ácido 1-{4-[6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-ilamino]-fenil}-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico

A una disolución del Intermedio 23 (50 mg, 0,16mm) en ácido acético (3 ml) se añadió el Intermedio 25 (49 mg, 0,19 mM). La reacción se calentó 2hr a 100°C. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y el sólido se recogió mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un blanco sólido (23 mg, 28%).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,09 (1H, s ancho), 8,82 (1H, s), 8,67 (1H, s) 8,26 (1H, dd, J 8,75Hz, J 1,5Hz), 8,13 (2H, d, J 8,75Hz), 7,87 (1H, d, J 8,7Hz), 7,66 (2H, d, J 8,7Hz), 7,46 (2H, m), 7,14 (1H,d, J 8,7Hz), 3,93 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,15 (3H, s), 3,03 (3H, s), 2,55 (3H, s); LC-MS: rt 2,22 m/z 510 ES+.

Ejemplo 31: Metilamida del ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3- carboxílico

Etapa1: Metilamida del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico.

A una disolución del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,4-triazol-3-carboxílico (Key Organics, 400 mg, 1,61 mM) y base de Hunig (667 μl, 3,86 mM) en DCM:DMF (6ml: 1 ml) a -10°C se añadió a gotas isobutilcloroformiato (250 μl, 1,93 mM). La reacción se agitó 30 min a -10°C luego se añadió lentamente una disolución de metilamina 2M (965 μl, 1,93 mM). La mezcla se dejó calentarse hasta r.t. y se agitó durante otra hora. La mezcla cruda se lavó con $NaHCO_3$ sat., se extrajo y se secó sobre $MgSO_4$, Después de la evaporación, el sólido obtenido se usó directamente en la siguiente reacción sin más purificación (374 mg, 89%). LC-MS: rt 2,01 m/z 261 ES+.

^{1}H RMN (d-DMSO) ™ 8,42 (2H, d, J 7Hz), 7,95 (2H, d, J 7Hz), 2,73 (3H, d, J 4,75Hz), 2,60 (3H, s).

Etapa 2: Metilamida del ácido 1-(4-amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico.

Una disolución de metilamida del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico de la etapa 1 (100 mg, 0,38 mmol) en metanol (8 ml) se inyectó a un caudal de 1ml/min en un hidrogenador "the H-Cube" que combina la generación de hidrógeno endógeno con un sistema de cartucho desechable (Pd/C), la temperatura se ajustó a 25°C a presión atmosférica. La solución obtenida se concentró para dar un sólido blanco (86 mg, 97%). LC-MS: rt 1,15 m/z 231 ES+.

^{1}H RMN (d-DMSO) ™ 8,61 (1H, s ancho), 8,54 (2H, d, J 7Hz), 7,12 (2H, d, J 7Hz), 2,73 (3H, d, J 4,75Hz), 2,60 (3H, s).

Etapa 3: Metilamida del ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3- carboxílico.

A una disolución del Intermedio 22 (50 mg, 0,16 mM) en ácido acético (3 ml) se añadió metilamida del ácido 1-(4-amino-fenil)-5-methilo 1H-[1,2,4]triazol-3- carboxílico de la etapa 2 (44 mg, 0,19 mM). La reacción se agitó 2hr a 100°C. La mezcla se enfrió y se añadieron 15 ml de NaOH 2N. El producto se molió y el sólido se recogió mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un sólido blanco (6 mg, 8%). LC-MS: rt 2,33 m/z 528 ES+.

^{1}H RMN (d-DMSO) ™ 10,02 (1H, s ancho), 8,74 (1H, s), 8,56 (1H, s) 8,21 (1H, dd, J 8,75Hz, J 1,5Hz), 8,01(2H, d, J 8,7Hz), 7,79 (2H, m), 7,60 (2H, d, J 8,7Hz), 7,57 (1H, s), 7,27 (1H, t, J 8,7Hz), 4,15 (2H, t, J 4,5Hz), 3,62 (2H, t, J 4,5Hz), 3,24 (3H, s), 2,67 (3H, d, J 4,7Hz), 2,44 (3H, s).

Ejemplo 32: Dimetilamida del ácido 1-(4-{6-[3-fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3- carboxílico

Se añadió a una disolución del Intermedio 22 (50 mg, 0,16 mM) en ácido acético (3 ml) el Intermedio 25 (47 mg, 0,19 mM). La reacción se calentó 2hr a 100°C. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y el sólido se recogió mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un sólido blanco (23 mg, 27%).

^{1}H RMN (d-DMSO) ™ 10,09 (1H, s ancho), 8,83 (1H, s), 8,66 (1H, s) 8,22 (1H, dd, J 7,5Hz, J 1,5Hz), 8,14(1H, d, J 5Hz), 8,10(1H, s), 7,85 (2H, m), 7,70 (2H, s), 7,66 (1H, s), 7,33 (1H,dd, J 10Hz, J 7,5Hz), 4,25 (2H, t, J 5Hz), 3,71 (2H, t, J 5Hz), 3,14 (3H, s), 3,01 (3H, s), 2,67 (3H, s), 2,44 (3H, s); LC-MS: rt 2,37 m/z 542 ES+.

Ejemplo 33: (6-Bromo-quinazolin-4-il)-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil-amina

A un tubo de carrusel se añadió 6-bromo-4-cloro-quinazolina (0,1 g, 0,41 mmol), el Intermedio Y (0,078 g, 0,45 mmol) y CH_3CN (anhidro, 4 ml) y la mezcla se agitó a 90°C bajo nitrógeno durante 24 hr. Un precipitado naranja se formó que se filtró y se lavó con agua, NaOH 1N y agua de nuevo y se secó bajo el vacío a 40°C. Se aislaron 0,1g (51 %) de sólido.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) 9,26 (1H, s), 9,05 (1H, s), 8,76 (1H, s), 8,20 (1H, s), 8,17 (1H, d, J =1,26Hz), 7,85 (2H, bs), 7,81 (1H, s), 7,74 (1H, dd, J = 8,85Hz, 2,53Hz), 7,47 (1H, d, J = 8,21Hz), 2,25 (3H, s); LC-MS rt 2,19 m/z 382 ES+.

Ejemplo 34: [1-(4-{6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3-il]-1-(4-metil-piperazin-1-il)metanona

Etapa 1: [5-Metil-1-(4-nitro-fenil-)-1H-1,2,4]triazol-3yl]-(4-metil-piperazin-1-il)-metanona.

A una disolución del ácido 5-metil-1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,4-triazol-3- carboxílico (Key Organics, 400 mg, 1,61 mM) y base de Hunig (667 μl, 3,86 mM) en DCM:DMF (6ml:1 ml) a -10°C se añadió a gotas isobutilcloroformiato (250 μl, 1,93 mM). La reacción se agitó 30 min. a -10°C luego se añadió lentamente metilpiperazina (214 μl, 1,93 mM). La mezcla se dejó calentarse hasta r.t. y se agitó durante otra hora. La mezcla cruda se lavó con $NaHCO_3$ sat., se extrajo y se secó sobre $MgSO_4$, Después de la evaporación, el sólido obtenido se usó directamente en la siguiente reacción sin otra purificación (335 mg, 63%). LC-MS: rt 1,26 m/z 330 ES+.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,39 (2H, d, J 7Hz), 7,92 ((2H, d, J 7Hz), 3,58 (4H, m), 3,30 (4H, m), 2,58 (3H, s), 2,15 (3H, s).

Etapa 2: [1-(4-Amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol-3-il]-(4-metil-piperazin-1-il) metanona.

Una solución de [5-Metil-1-(4-nitro-fenil-)-1H-[1,2,4]triazol-3-il]-(4-metil-piperazin-1-il)-metanona de la etapa 1 (100 mg, 0,302 mmol) en metanol (8 ml) se inyectó a un caudal de 1ml/min en un hidrogenador "the H-Cube" que combina la generación de hidrógeno endógeno con un sistema de cartucho desechable (Pd/C), la temperatura se ajustó a 25°C a presión atmosférica. La solución obtenida se concentró para dar un sólido blanco (87 mg, 96%). LC-MS: rt 2,22 m/z 301ES+.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 8,60 (1H, s ancho), 7,51 (2H, d, J 7Hz), 7,09 ((2H, d, J 7Hz), 3,58 (4H, m), 3,30 (4H, m), 2,58 (3H, s), 2,15 (3H, s).

Etapa 3: [1-(4-{6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-ilamino}-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]triazol- 3-il]-(4-metil-piperazin-1-il)metanona.

A una disolución del Intermedio 22 (55 mg, 0,16 mM) en ácido acético (3 ml) se añadió la [1-(4-amino-fenil)-5-metil-1H-[1,2,4]-triazol-3-il]-(4-metil-piperazin-1-il) metanona de la etapa 2 (58 mg, 0,19 mM). La reacción se calentó 2hr a 100°C. La mezcla se enfrió y se añadieron 15ml de NaOH 2N. El producto se molió y el sólido se recogió mediante filtración. El sólido se purificó por HPLC preparativa y se aisló como un sólido blanco (25 mg, 26%). LC-MS: rt 2,11 m/z 597 ES+.

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 10,32 (1H, s ancho), 9,05 (1H, s), 8,88 (1H, s) 8,45 (1H, dd, J 7,5Hz, J 1,5Hz), 8,35(1H, d, J 5Hz), 8,31(1H, s), 8,08 (2H, m), 7,92 (2H, s), 7,86 (1H, s), 7,58 (1H,dd, J 10Hz, J 7,5Hz), 4,47 (2H, t, J 5Hz), 3,95 (2H, t, J 5Hz), 3,88 (4H, m), 3,57 (3H, oscurecido por H_2O), 3,53 (4H, oscurecido por H_2O), 2,78 (3H , s), 2,43 (3H, s).

Ejemplo 35: 2-Metoxi-4-[4-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenilamino)-quinazolin-6-il]-fenol

Etapa 1: N'-(3-Ciano-4'-hidroxi-3'-metoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina

Una mezcla de boronato (Aldrich, 2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol, 500 mg, 1,2eq) y el Intermedio 2 (1eq, 498 mg), carbonato potásico (1,2eq, 276 mg) en DMF/H2O (3:1, 12 ml) se trató con Pd $Cl_2(PhCN)_2$ (2%, 13 mg) y se agitó a rt bajo N2 durante 12h. La mezcla se diluyó con agua (50 ml) y se filtró a través de una frita plástica bajo succión. La torta de filtro se lavó con dietil-éter y se secó *in vacuo* para dar un sólido de color vino (390 mg, 79%),

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 3,18 (6H, d); 3,98 (3H, s); 6,94 (1H,d), 7,2 (1H, d); 7,32 (3H, m); 7,88 (1H, d); 7,99 (1H, s); 8,11 (1H, s); 9,23 (1H, s); LCMS rt 1,93 m/z 295 ES+

Etapa 2: 2-Metoxi-4-[4-(4-[1,2,4] triazol-1-il-fenilamino)-quillazolin-6-il]-fenol

Una mezcla de N-(3-Ciano-4'-hidroxi-3'-metoxi-bifenil-4-il)-N,N-dimetil-formamidina (220 mg) y triazolil-anilina (113 mg) en ácido acético (2 ml) se calentó a 125 durante 2h. La mezcla enfriada se diluyó con agua y se filtró bajo succión toda la noche. El sólido resultante se sonicó en acetona (20 ml) con calentamiento y se filtró. El sólido se secó para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (28 mg).

^{1}H RMN (D_6-DMSO) ™ 3,86 (3H, s); 6,88 (1H, d); 7,28 (1H, d); 7,36 (1H, s); 7,82 (3H, m); 8,03 (2H, m); 8,15 (2H, m); 8,56 (1H, s); 8,69 (1H, s); 9,2 (2H, s); 9,98 (1H, s); LC-MS rt 2,14 m/z 411 ES+.

Ejemplo 36: 2-Metoxi-5-[4-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenilamino)-quinazolin-6-il]-fenol

Este compuesto se puede preparar por el método del Ejemplo 35, siendo preparado el boronato apropiado a partir del 5-bromo-2-metoxifenol, preparado en sí mismo por la reacción de Sandmeyer (véase *JOC*, 1993, **58**, 1,42). El ácido borónico / boronato requerido se puede preparar mediante una boronación catalizada con paladio usando bis (pinacolato)borano o por protección temporal del fenol, es decir con dihidropirano, seguido de una litiación, la reacción con trimetoxiborato seguido de la hidrólisis y la eliminación concomitante del grupo protector.

Ejemplo 37: {6-[3-Fluoro-4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-quinazolin-4-il}-(2-metil-4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)- amina

Este compuesto se puede preparar por el método representado en el Ejemplo 27, usando la formamidina apropiado descrita como el Intermedio 22.

Ejemplo 38: Actividad del replicón de HCV

Materiales:

Línea celular del replicón de HCV

• replicón 1b (Huh.7) descrito en *Science* **285**, 110-113.

o Huh-9B: línea celular hepática con la secuencia codificante del genotipo 1b de HCV bicistrónica persistente: [I389lucubineo_3-3'_ET] incluye la proteína de fusión de fosfotransferasa luciferasa -ubiquitina-neomicina de luciérnaga y la secuencia codificante de HCV no estructural conducido por EMCV-IRES (de NS3 a NS5B) que incluye mutaciones adaptivas del cultivo celular E1202G, T1280I y K1846T (Lohmann *et al*, 2001).

Método:

Este ensayo se pone usando todos los 96 pocillos de placas de 96 pocillos de fondo redondo. Las placas se disponen un día antes de la adición de los compuestos. El ensayo luego se realiza durante 4 días teniendo lugar el desarrollo del ELISA el 5º día.

Día 1

Preparación de las placas de ensayo

Se lavaron monocapas de Huh-9B que crecían exponencialmente con PBS estéril para eliminar suero y se trataron con tripsina para despegar las células del recipiente.

Se suspendieron las células en media de cultivo y se contaron usando un hemocitómetro. Las placas de 96 pocillos duplicadas se sembraron con Huh-9B a una densidad de 10^4 células/pocillo en un volumen total de 100 μl/pocillo de medio de cultivo sin antibióticos como se representa más abajo.

Una de las placas es una placa de 96 pocillos blanca opaca usada para la determinación de la IC50 basada en la señal de luciferasa (denominada placa del replicón), la otra es una placa de 96 pocillos clara usada para una determinación paralela de la toxicidad del fármaco por tinción con azul de metileno (denominada placa tox). Los pocillos G12 y H12 de la placa tox se dejan sin células para usarlos como la lectura de la línea de fondo del tampón solo.

Las placas se incuban luego a 37°C en un ambiente de CO_2 al 5 % durante 24 h para obtener una monocapa de células confluente al 90 %.

Día 2

Adición del compuesto y diluciones de compuesto

Se generaron diluciones dobles de cada compuesto en una placa de fondo redondo de capacidad para gran volumen de 96 separada a dos veces su concentración inicial en el ensayo usando medio de cultivo sin antibióticos.

Se analizaron cinco compuestos (de C1 a C5) en cada placa de ensayo como se ilustra más abajo más un compuesto control que también se incluye en cada placa.

Los compuestos se analizan a través de una serie de dilución doble de 8 puntos. La dilución inicial de cada compuesto que se analiza es 25 μM y 12,5 μM para el compuesto control.

Los pocillos con solo DMSO (A1 y A2) al 1 % proporcionan la señal correspondiente a la detección de luciferasa máxima (100 %). Los experimentos de optimización previos mostraron una señal de luciferasa despreciable a partir de células que no contenían replicón y el nivel de detección de la línea de fondo de los pocillos control (inespecífica) no se incluye normalmente. La señal de los pocillos con DMSO al 1 % (señal máxima) constituye la ventana de ensayo.

Para cada dilución de compuesto en la placa de dilución de 2 x 96-pocillo se transfirieron 100 μl usando una pipeta multicanal sobre los pocillos de espejo de la placa del replicón y tox que contienen 100 μl de medio para obtener la concentración final deseada.

Día 5

Etapa de detección de luciferasa en la placa del replicón

Se retira el medio de los pocillos dentro de Virkon y las placas se lavan una vez en PBS caliente y se secan lentamente tapadas.

Para cada pocillo se añaden 20 μl de tampón de lisis por la pipeta multicanal. Los lisados son estables en este punto durante varias horas.

Se coloca el tampón de ensayo de luciferasa en el luminómetro (Lmax, Molecular Devices).

El inyector M se ceba con 4x 300 μl de tampón de ensayo de luciferasa. La placa que se analiza se pone en el luminómetro y se inyectan 100 μl de tampón de ensayo de luciferasa automáticamente dentro de un pocillo seguido por una lectura de integración de 4 segundos.

Después de una segunda espera se inyecta a un segundo pocillo 100 μl de tampón de ensayo de luciferasa seguido por una lectura de integración de 4 segundos y así sucesivamente hasta que se analizan todos los 96 pocillos.

Una vez que se finalice la lectura el sistema de inyección del luminómetro se lava con agua desionizada.

Los datos se obtienen usando el SOFTmax para el paquete del software Lmax Pro.

Determinación de la toxicidad en la placa tox

Se retira el medio de los pocillos dentro de Virkon y las placas se secan tapadas despacio. A cada pocillo se añaden 100 μl de solución al 0,5 % de azul de metileno en metanol al 50 % a todos los pocillos incluyendo los blancos (G12 y H12). Las placas se dejan a RT durante un mínimo de 1 h. Las placas se aclaran luego suavemente sumergiéndolas en una caja de plástico con agua, se secan tapadas suavemente y se dejan abiertas hasta que se consigue un secado completo. El tinte se solubiliza añadiendo 100 μl de lauroilsarcosina al 1 % a cada pocillo y agitación durante 1 h a 37 °C. Las placas de leen en el espectrofotómetro SpectraMax a 620 nm de longitud de onda usando el paquete del software SOFTmax Pro.

Resultados:

Para calcular la IC50, los archivos de los datos Del SOFTmax se exportan como archivos Excel o de texto. Se usa luego un análisis de regresión no lineal de cuatro parámetros estándar de los datos obtenidos de cada compuesto.

En el análisis anterior se promedian todos los pocillos replicados. El % del control se calcula luego para cada punto de concentración como un porcentaje de los pocillos control de DMSO.

	IC50 de Replicón ***<5μM; **=5-20μM; *>20μM	TD50 de Replicón **>25μM, *<25μM
Nº. de Ejemplo	μM	μM
1	***	*
2	**	**
3	***	**
4	**	**
5	***	**
6	*	**
7	***	**
8	***	**
9	***	**
10	***	*
11	***	**
12	***	*
13	**	*
14	**	**
15	***	**
16	***	**
17	***	**
18	***	**
19	***	**

20	***	*
21	***	**
22	***	*
23	***	*
24	***	**
25	***	*
26	***	*
27	***	*
28	**	**
29	**	**
30	***	*
31	***	**
32	***	*

Ejemplo 39: Acción sinérgica entre los inhibidores de replicación de HCV y el interferón αA humano

Se llevaron a cabo experimentos ELISA según el efecto combinado del inhibidor de replicación de HCV [6-(3,4-Dimetoxifenil)- quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina con el interferón αA (Sigma Hu-INF-α A número de pedido 14276).

Protocolo ELISA como en el Ejemplo 38

La IC50 para [6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina se calculó para cada concentración de línea de fondo del interferón αA. De modo similar, la IC50 para el interferón αA se calculó para cada concentración de línea de fondo del [6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina.

La [6-(3,4-Dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina tuvo una IC50 de ELISA de 0,2 μM frente al replicón 1b de HCV. El Interferón αA tuvo una IC50 de ELISA de 6 μ/ml frente al replicón 1b de HCV.

En combinación, a concentraciones de [6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)- amina por debajo de su IC50, la IC50 del interferón αA se redujo de 6u/ml a al menos 0,008 u/ml. A concentraciones del interferón αA por debajo de su IC50, la IC50 de [6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-amina se reduce de 0,2 μM a al menos 0,067 μM.

La concentración inhibitoria fraccional (FIC) se puede usar para identificar la interacción sinérgica.

$$\mathbf{FIC} = \frac{\textbf{Comp. A a menor IC50}^{\textbf{Combinación}}}{\textbf{IC50 Comp. A}^{\textbf{Solo}}} + \frac{\textbf{Comp. B a menor IC50}^{\textbf{Combinación}}}{\textbf{IC50 Comp. B}^{\textbf{Solo}}}$$

donde el valor de FIC:

<0,5 SINERGIA

0,5 - 1,0 ADICIÓN

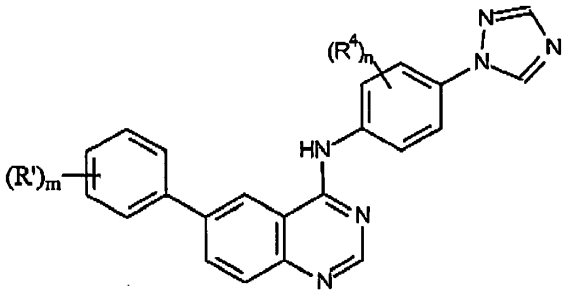
1,0 - 2,0 INDIFERENCIA

>2,0 ANTAGONISMO

FIC =0,008u/ml + 0,067uM = 0,336 6u/ml 0,2μM

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de quinazolina con la fórmula (Ib) o su sal farmacéuticamente aceptable:

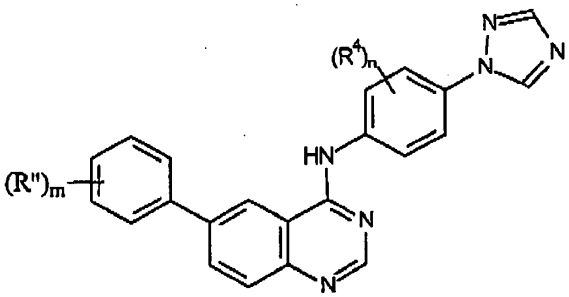


(Ib)

en el que:

- cada R^4 es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4};
- n es 0, 1 o 2;
- cada R' es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4}; y
- m es 0, 1 o 2,

2. Un derivado de quinazolina con la fórmula (Ic), o su sal farmacéuticamente aceptable:



(Ic)

en el que:

- cada R^4 es igual o diferente y representa halógeno, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4};
- m es 1;
- n es 0, 1 o 2; y
- R'' es -A', -Het-A', -L-A', -Het-L-A', -L-Het-A', -Het-L-Het'-A' o Het-L-Het'-L' en el que:
- A' representa un grupo fenilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 5 a 10 miembros o carbociclilo C_{3-6} que se fusiona opcionalmente a otro grupo fenilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 5 a 10 miembros o carbociclilo C_{3-6};
- cada Het y Het' es igual o diferente y representa -O-, -S- o -NR'-donde R' es hidrógeno o alquilo C_{1-4};
- cada L es igual o diferente y representa alquileno C_{1-4}; y
- cada L' es igual o diferente y representa hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4} o aminoalquilo C_{1-4},

estando no sustituidos o sustituidos el fenilo, los restos heteroarilo, heterociclilo y carbociclilo en A' por 1, 2 o 3 sustituyentes sustituidos que son iguales o diferentes y se seleccionan de átomos de halógeno y alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4}, haloalcoxi C_{1-4}, hidroxi, ciano, nitro y -NR'R", en el que cada R' y R" es igual o diferente y representa hidrógeno o alquilo C_{1-4},

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que cada A' es igual o diferente y es un fenilo no fusionado, heteroarilo de 5 a 6 miembros o heterociclilo de 5 a 6 miembros.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el fenilo, los restos heteroarilo, heterociclilo y carbociclilo en los grupos A' están no sustituidos o sustituidos con 1 o 2 sustituyentes sustituidos que son iguales o diferentes y se seleccionan de halógeno, hidroxi, alquilo C_{1-4} y alcoxi C_{1-4},

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que cada A' es igual o diferente y es un grupo no fusionado de heteroarilo de 5 a 6 miembros o heterociclilo que está no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes sustituidos que son iguales o diferentes y se seleccionan de halógeno, alquilo C_{1-4} y C_{1-2} alcoxi.

6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que n es 0 o 1.

7. Un derivado de la quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic), como se define en la reivindicación 1 o 2, para uso en tratamiento del cuerpo humano o animal.

8. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic), como se define en la reivindicación 1 o 2, o su sal farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

9. El uso de un derivado de quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic), como se define en la reivindicación 1 o 2, o su sal farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la prevención de una infección de flaviviridae.

10. El uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la infección por flavivirdae es una infección por hepacivirus.

11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la infección por hepacivirus es una infección por un virus de la hepatitis C.

12. El uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el medicamento comprende además (a) interferón o un derivado de éste y/o (b) ribavirina o un derivado de ésta.

13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el derivado del interferón es PEG-interferón y/o el derivado de ribavirina es viramidina.

14. Un producto que contiene: (a) un derivado de quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic), como se define en la reivindicación 1 o 2, o su sal farmacéuticamente aceptable; y (b) interferón o un derivado de interferón y/o ribavirina o un derivado de ribavirina; para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento del cuerpo humano o animal.

15. Una composición farmacéutica que comprende (a) un derivado de quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic) como se define en la reivindicación 1 o 2, o su sal farmacéuticamente aceptable, y (b) interferón o un derivado de interferón, junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

16. E uso de un derivado de quinazolina de fórmula (Ib) o (Ic), como se define en la reivindicación 1 o 2, o su sal farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la prevención de una infección por HCV, mediante la co-administración con un interferón o derivado de interferón.

17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es [6-(3,4-dimetoxi-fenil)-quinazolin-4-il]-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)- amina, o su sal farmacéuticamente aceptable.