

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 759**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 31/501 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09752059 .7**

96 Fecha de presentación: **05.11.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2358698**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.08.2011**

54 Título: **Piridazina tetrasustituída como antagonistas de la vía Hedgehog.**

30 Prioridad:

17.11.2008 US 115332 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

13.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

13.12.2012

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

BASTIAN, JOLIE, ANNE;
CLAY, JULIA, MARIE;
COHEN, JEFFREY, DANIEL;
HIPSKIND, PHILIP, ARTHUR;
LOBB, KAREN, LYNN;
SALL, DANIEL, JON;
WILSON (NEE TAKAKUWA), TAKAKO y
THOMPSON, MICHELLE, LEE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 392 759 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

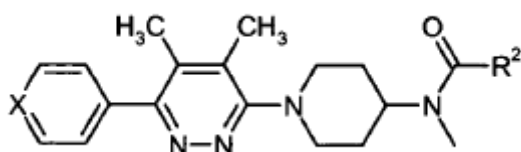
Piridazina tetrasustituida como antagonistas de la vía Hedgehog

La presente invención se refiere a antagonistas de la vía Hedgehog y, más específicamente, a nuevas piridazinas tetrasustituidas y uso terapéutico de las mismas. La vía de señalización Hedgehog (Hh) juega un importante papel en la formación del patrón embrionario y mantenimiento del tejido adulto dirigiendo la diferenciación y proliferación celular. La familia de proteínas Hedgehog (Hh), que incluye Sonic Hedgehog (Shh), Indian Hedgehog (Ihh), y Desert Hedgehog (Dhh) son glucoproteínas segregadas que sufren modificaciones post-traduccionales, incluyendo escisión autocatalítica y acoplamiento del colesterol tal péptido terminal amino para formar el fragmento que posee actividad de señalización. Hh se une a la proteína transmembrana de paso doce Ptch (Ptch1 y Ptch2), reduciendo de ese modo la supresión mediada por Ptch de Smoothened (Smo). La activación de Smo dispara una serie de eventos intracelulares que culminan en la estabilización de los factores de transcripción de Gli (Gli1, Gli2, y Gli3) y la expresión de los genes dependientes de Gli que son responsables de la proliferación celular, supervivencia celular, angiogénesis e invasión.

La señalización de Hh recientemente ha atraído considerable interés en base al descubrimiento de que la activación anormal de la señalización de Shh lleva a la formación de diversos tumores, por ejemplo cáncer pancreático, meduloblastoma, carcinoma de células basales, cáncer pulmonar de células pequeñas, y cáncer de próstata. Se han informado varios antagonistas de Hh en la técnica, tales como el compuesto alcaloide esteroide IP-609; el compuesto de aminoprolina CUR61414; y el compuesto de tiazol 2,4-disustituido JK18. El documento WO2005033288 divulga ciertos compuestos de ftalazina 1,4-disustituidos que se afirma que son antagonistas de hedgehog. En forma similar, el documento W02008110611 divulga ciertos compuestos de ftalazina 1,4-disustituidos relacionado con el diagnóstico y tratamiento de patologías relacionada con la vía de hedgehog.

Existe una necesidad de inhibidores potentes de la vía hedgehog, particularmente aquellos que tienen perfiles farmacodinámicos, farmacocinéticos y de toxicología deseados. La presente invención proporciona nuevas piridazinas tetrasustituidas que son antagonistas potentes de esta vía.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:

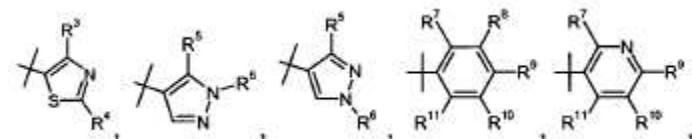


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

X es C-R¹ o N;

R¹ es hidrógeno, flúor o ciano;

R² es



piperidinilo, o ciclohexilo sustituido con gem di-fluoro;

R³ es metilo o trifluorometilo;

R⁴ es pirrolidinilo, morfolinilo o piridilo, amino o dimetilamino;

R⁵ es trifluorometilo, o metilsulfonilo;

R⁶ es hidrógeno o metilo; y

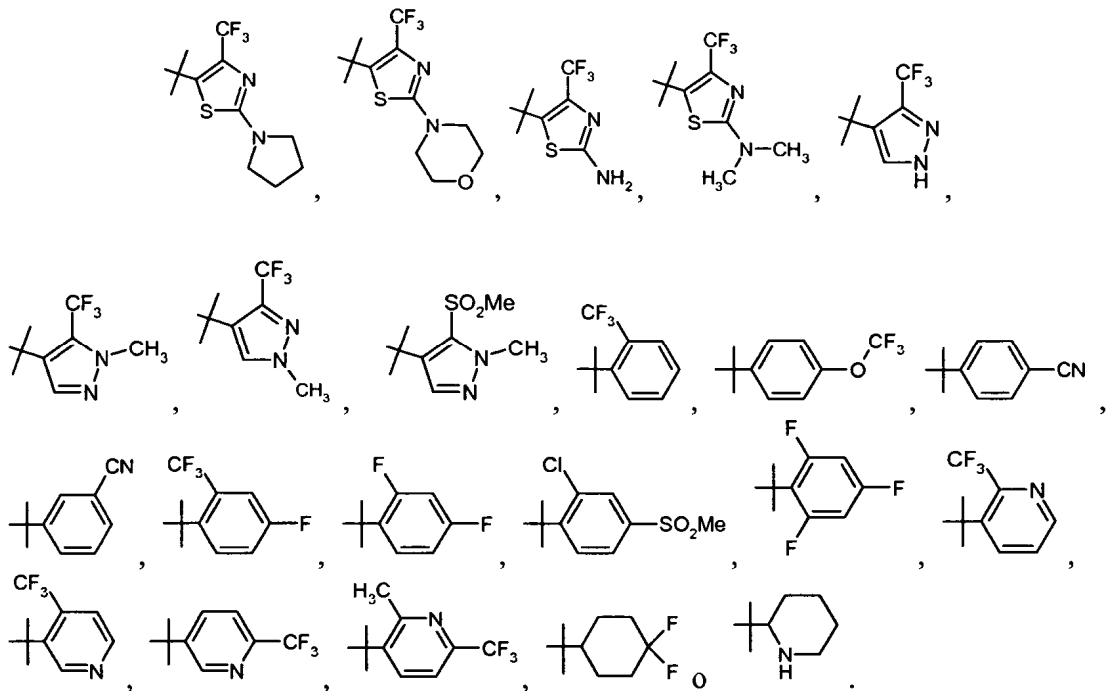
R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ son independientemente hidrógeno flúor, ciano, cloro, metilo, trifluorometilo, trifluorometoxi o metilsulfonilo, siempre que al menos dos de R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ sean hidrógeno.

Aquellos expertos entenderán que los compuestos de la presente invención comprenden un resto de amina terciaria y son capaces de reacción con una serie de ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición de ácido

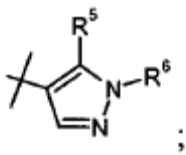
farmacéuticamente aceptables. Dichas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y metodología común para preparar las mismas son bien conocidas en la técnica. Véase, *por ejemplo*, P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, Volumen 66, N° 1, enero de 1977.

5 Las realizaciones específicas de la invención incluyen compuestos de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

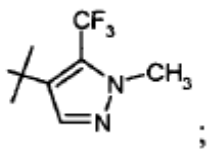
- (a) X es C-R¹
- (b) R¹ es flúor;
- (c) R¹ es ciano;
- 10 (d) R² es:



(e) R² es

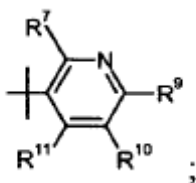


(f) R² es

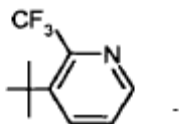


15

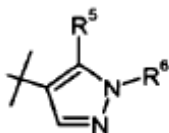
(f) R² es



(g) R² es

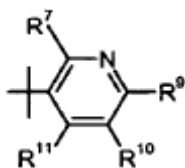


(h) R¹ es flúor y R² es



5

(i) R¹ es ciano y R² es



10

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15

Los compuestos de la presente invención preferentemente son formulados como composiciones farmacéuticas administradas mediante un variedad de vías. Preferentemente, dichas composiciones son para la administración oral o intravenosa. Dichas composiciones farmacéuticas y procedimientos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, et al., eds., 19ª edición, Mack Publishing Co., 1995).

20

La presente invención se refiere a un procedimiento para tratar cáncer cerebral, carcinoma de células basales, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer del tracto biliar, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer pulmonar de células no pequeñas, linfoma de linfocitos B, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón o melanoma en un paciente que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

Se entenderá que la cantidad del compuesto realmente administrada será determinada por un médico en circunstancias apropiadas, incluyendo la afección que debe ser tratada, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos reales administrados, la edad, peso, y respuesta del paciente individual, y la severidad de los síntomas del paciente. Las dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 mg/kg del peso corporal. En algunos casos los niveles de dosificación debajo del límite inferior del intervalo antes mencionado pueden ser más que apropiados, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis aún mayores. Por ello, el intervalo de dosificación anterior no intenta restringir el ámbito de la invención de ninguna manera. la presente invención también proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.

30

Adicionalmente, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar cáncer. En particular, el cáncer se selecciona del grupo constituido por cáncer cerebral, carcinoma de células basales, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer del tracto biliar, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer pulmonar

de células pequeñas, cáncer pulmonar de células no pequeñas, linfoma de célula B, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón y melanoma.

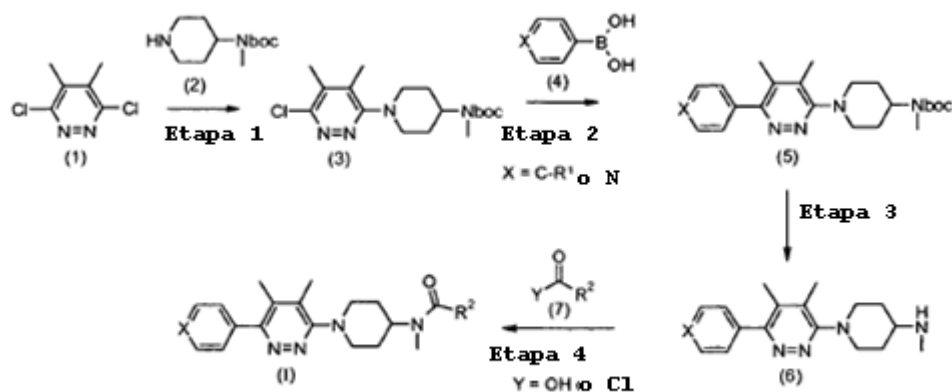
Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como ingrediente activo para tratar cáncer cerebral, carcinoma de células basales, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer del tracto biliar, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer pulmonar de células no pequeñas, linfoma de célula B, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón o melanoma.

Los compuestos de fórmula I, o sales de los mismos, pueden prepararse mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, así como aquellos descritos en los Esquemas, Preparaciones, y Ejemplos más abajo. Las etapas sintéticas específicas para cada una de las rutas descritas pueden combinarse en formas diferentes, o en conjunción con las etapas de diferentes esquemas, para preparar los compuestos de fórmula I, o sales de los mismos.

Los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son como se ha definido previamente. Los reactivos y materiales de partida en general están fácilmente disponibles para uno con experiencia en la técnica. Otros pueden prepararse mediante técnicas estándar de química heterocíclica y orgánica, técnicas que son análogas a la síntesis de compuestos similares estructuralmente conocidos, y los procedimientos descritos en las Preparaciones y Ejemplos que siguen incluyendo cualquier procedimiento nuevo.

Según lo utilizado en la presente memoria, los siguientes términos tienen los significados indicados: "boc" o "t-boc" se refiere a terc-butoxicarbonilo; "BOP" se refiere a hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio; "DMA" se refiere a *N,N*-dimetilacetamida; "DMF" se refiere a *N,N*-dimetilformamida; "DMSO" se refiere a metilsulfóxido; "EDCI" se refiere a hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; "Et₂O" se refiere a diétil éter; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "iPrOH" se refiere a isopropanol; "MeOH" se refiere a metanol; "TFA" se refiere a ácido trifluoroacético; "SCX" se refiere a intercambio de cationes fuertes; "PyBOP" se refiere a hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidino-fosfonio; y "Cl₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce 50% de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente.

Esquema 1

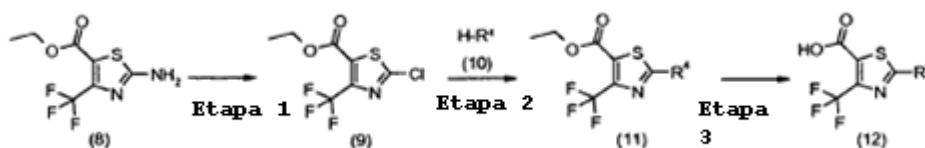


Un compuesto de fórmula I puede prepararse en conformidad con las reacciones descritas en el Esquema 1.

En el Esquema 1, etapa 1, la 3,6-dicloro-4,5-dimetilpiridazina (1) es desplazada con metil(piperidin-4-il)carbamato de terc-butilo (2) en una reacción de sustitución aromática nucleófila (S_NAr) en un disolvente aprótico polar tal como DMF, DMA, o DMSO en presencia de una base orgánica tal como trietilamina y/o una base inorgánica tal como carbonato de potasio con calentamiento hasta 100-140°C para proporcionar 1-(6-cloro-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de terc-butilo (3). En la etapa 2, el cloruro restante en la dimetilpiridazina puede reaccionar con un ácido aril borónico (4) en una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura para dar la correspondiente piperidina arilpiridazina-3-sustituida 4,5-dimetil-6-sustituida (5). El experto en la técnica apreciará que hay una variedad de condiciones útiles para facilitar dichas reacciones de acoplamiento cruzado. Las condiciones de reacción utilizan un disolvente apropiado tal como dioxano o dioxano/agua en presencia de una base tal como carbonato de cesio o fluoruro de cesio y un catalizador de paladio tal como cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio(II) o (SP-4-1)-bis[bis(1,1-dimetiletil)(4-metoxifenil)fosfina-u]dicloro-paladio (preparado en conformidad con J. Org. Chem. 2007, 72, 5104-5112) bajo una atmósfera inerte a una temperatura de aproximadamente 80-160°C para dar un compuesto de fórmula (5). La amina puede desprotegerse mediante métodos de desprotección estándar. Los métodos para introducir y eliminar grupos protectores de nitrógeno son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Greene and Wuts, Protective Groups

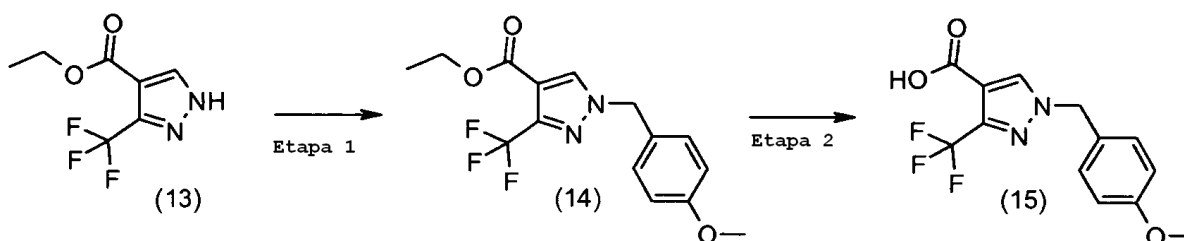
in Organic Synthesis, 3^o edición., John Wiley and Sons, Nueva York, (1999)). Por ejemplo, la desprotección de boc de la amina de fórmula (5) puede realizarse en condiciones ácidas, tales como cloruro de hidrógeno o ácido trifluoroacético para dar un compuesto de fórmula (6). La acilación de la amina en la etapa 4 puede realizarse con un cloruro de ácido sustituido (7) en un disolvente inerte tal como diclorometano o alternativamente, un compuesto de fórmula (6) puede someterse a acilación utilizando un ácido carboxílico sustituido y un reactivo de acoplamiento apropiado tal como PyBOP, difenilfosfinato de pentafluorofenilo, BOP, o EDCI y una base apropiada tal como trietilamina o diisopropiletilamina en un disolvente apropiado tal como DMF y/o DMSO, o diclorometano para dar compuestos neutrales de fórmula I. Los compuestos de fórmula I pueden convertirse en una sal tal como la sal de HCl mediante procedimientos conocido para un experto en la técnica tal como añadir HCl en Et₂O y el HCl puede generarse *in situ* mediante la adición en gotas de cloruro de acetilo a una solución de un disolvente alcohólico tal como metanol a 0-20 °C.

Esquema 2



Los ácidos carboxílicos deseados (7), (Y = OH, Etapa 4, Esquema 1), pueden prepararse tal como se muestra en el Esquema 2. La amina primaria en la posición 2 del tiazol (8) es desplazada con un cloruro en la reacción de Sandmeyer utilizando cloruro de cobre y nitrito de isopentilo en un disolvente apropiado tal como acetonitrilo tal como se muestra en la Etapa 1 para dar un tiazol 2-cloro-4,5-sustituido (9). El cloruro después se desplaza con la amina deseada (10) en la Etapa 2 en un disolvente aprótico polar tal como DMSO para dar el correspondiente aminotiazol (11). La hidrólisis del éster en la Etapa 3 con una base apropiada tal como hidróxido de sodio acuoso o hidróxido de litio acuoso en un disolvente apropiado tal como MeOH o dioxano proporciona el ácido carboxílico deseado (12).

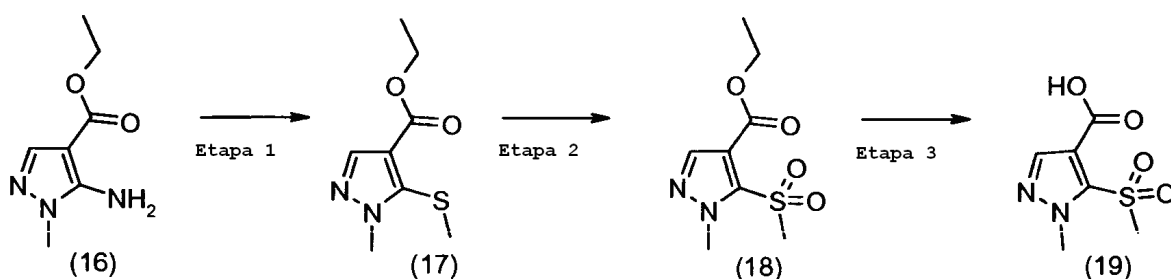
Esquema 3



En otro ejemplo para preparar el ácido carboxílico deseado (7), (Y = OH, Etapa 4, Esquema 1), tal como se muestra en el Esquema 3, un pirazol (13) se protege con un grupo protector apropiado tal como 4-metoxibencilo tal como se muestra en la Etapa 1 utilizando una base inorgánica tal como carbonato de potasio en un disolvente tal como acetona para dar el pirazol protegido (14). El éster después se hidroliza con una base apropiada tal como se muestra en la Etapa 3 para dar un compuesto de fórmula (15). Después de la acilación en la Etapa 4, Esquema 1, la desprotección del pirazol puede completarse en condiciones ácidas tales como TFA para dar los compuestos de fórmula 1.

El Esquema 4 muestra aún otro ejemplo para preparar un ácido carboxílico (7), (Y = OH, Etapa 4, Esquema 1).

Esquema 4

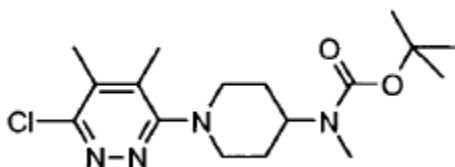


5 Puede añadirse nitrito de isopentilo en gotas a una solución de un amino pirazol (16) y disulfuro de dimetilo en un disolvente inerte tal como cloroformo para convertir la amina primaria en un grupo tiometilo para formar 1-metil-5-(metilitio)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo (17) tal como se muestra en la Etapa 1. El grupo tiometilo del compuesto (17) puede oxidarse en metilsulfona con un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno en un disolvente apropiado tal como ácido acético para dar un compuesto de fórmula 18, Etapa 2. La hidrólisis del éster tal como se describe previamente proporciona el ácido carboxílico apropiado tal como se muestra en la Etapa 3, compuesto (7).

10 Las siguientes Preparaciones y Ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención en mayor detalle y representan síntesis típicas de los compuestos de fórmula (I). Los nombres de los compuestos de la presente invención en general son proporcionados por ChemDraw Ultra® 10,0.

Preparación 1

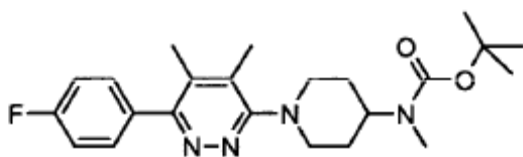
1-(6-cloro-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de terc-butilo



15 Calentar una mezcla de 3,6-dicloro-4,5-dimetilpiridazina (11,0 g, 62,1 mmol), metil(piperidin-4-il)carbamato de terc-butilo (23,3 g, 109 mmol), y K_2CO_3 en polvo (17,2 g, 124 mmol) en DMSO (310 ml) a 120 °C durante 2 días. Enfriar la mezcla de la reacción, diluir con H_2O , y filtrar el sólido. Enjuagar el sólido con H_2O , y secar al vacío a 45 °C. Disolver el sólido en CH_2Cl_2 , y pasar la solución a través de una almohadilla de gel de sílice, eluyendo con CH_2Cl_2 . Concentrar la capa orgánica bajo presión reducida para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (14,3 g, 65%). EM/EP m/z (^{35}Cl) 355,0 (M+1).

20 Preparación 2

1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de terc-butilo



25 Calentar una mezcla de 1-(6-cloro-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de terc-butilo (1,5 g, 4,23 mmol), ácido 4-fluorofenilborónico (887 mg, 6,34 mmol), CS_2CO_3 (5,51 g, 16,9 mmol) y (SP-4-1)-bis[bis(1,1-dimetiletil)(4-metoxifenil)fosfina-uP]dicloro-paladio (J. Org. Chem. 2007, 72, 5104-5112) (29 mg, 0,042 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano (30 ml) y H_2O (10 ml) bajo N_2 a 90°C durante toda la noche. Repartir la mezcla de la reacción entre H_2O y CH_2Cl_2 . Separar las capas, y extraer la capa acuosa con CH_2Cl_2 . Combinar las capas orgánicas, secar sobre Na_2SO_4 , filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 2% NH_3 2 M/MeOH en CH_2Cl_2) para proporcionar el compuesto del título como una espuma blanca (1,05 g, 60%). EM/EP m/z 415,2 (M+1).

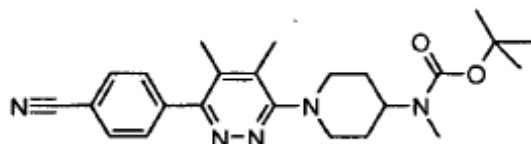
Procedimiento alternativo:

Tratar una mezcla desgasificada con N_2 de 1-(6-cloro-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de terc-

- 5 *butilo* (3,01 g, 8,48 mmol), ácido 4-fluorofenilborónico (1,23 g, 8,80 mmol) y CsF (4,08 g, 26,8 mmol) en 1,4-dioxano (80 ml) con cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio(II) (1,10 g, 1,35 mmol). Calentar la mezcla resultante bajo N₂ at 95°C durante toda la noche. Repartir la mezcla de la reacción entre H₂O y EtOAc. Separar las capas, y lavar la capa orgánica con salmuera. Secar la capa orgánica sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 20 a 80% EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (3,05 g, 87%). EM/EP m/z 415,2 (M+1).

Preparación 3

1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de *terc-butilo*



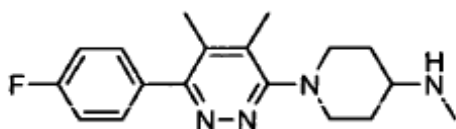
- 10 Calentar una mezcla de 1-(6-cloro-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de *terc-butilo* (1,5 g, 4,23 mmol), ácido 4-cianofenilborónico (932 mg, 6,34 mmol), Cs₂CO₃ (5,51 g, 16,9 mmol) y (SP-4-1)-bis[bis(1,1-dimetiletil)(4-metoxifenil)fosfina-uP]dicloro-paladio (29 mg, 0,042 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano (30 ml) y H₂O (10 ml) bajo N₂ a 90°C durante toda la noche. Repartir la mezcla de la reacción entre EtOAc y H₂O con NaHCO₃ disuelto. Separar las capas, y extraer la capa acuosa con EtOAc. Combinar las capas orgánicas, secar sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 2% NH₃ 2 M/MeOH en CH₂Cl₂) para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (1,68 g, 94%). EM/EP m/z 422,2 (M+1).

- 20 Preparar las fenilpiridazinas sustituidas en la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 3, utilizando el ácido borónico sustituido apropiadamente. Para la Preparación 5, directamente filtrar la mezcla cruda de la reacción sobre un pecho corto de gel de sílice eluyendo con 5% NH₃ M /MeOH en CH₂Cl₂. Concentrar el eluyente y purificar sin una elaboración acuosa.

Prep. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
4	1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de <i>terc-butilo</i>		397,2 (M+1)
5	1-(4,5-dimetil-6-(piridina-4-il)piridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de <i>terc-butilo</i>		398,2 (M+1)

Preparación 6

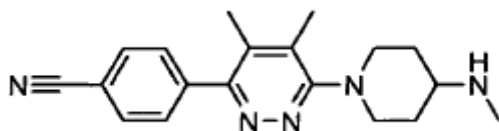
1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-N-metilpiperidin-4-amina



- 25 Tratar una solución de 1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de *terc-butilo* (1,04 g, 2,51 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) con HCl 4 M en 1,4-dioxano (15,0 ml). Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 horas. Concentrar la mezcla de la reacción bajo presión reducida. Disolver el residuo en MeOH, y verter en una columna de SCX (Varian, 10 g). Enjuagar la columna con MeOH y CH₂Cl₂, y eluir el producto con una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y NH₃ 2 M/MeOH. Concentrar bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido blancuzco (784 mg, 99%). EM/EP m/z 315,2 (M+1).

Preparación 7

4-(4,5-dimetil-6-(4-(metilamino)piperidin-1-il)piridazin-3-il)benzonitrilo



5 Tratar una solución de 1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de *terc-butilo* (1,68 g, 3,99 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) con HCl 4 M en 1,4-dioxano (20 ml). Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 horas. Concentrar la mezcla de la reacción bajo presión reducida. Disolver el residuo en MeOH, verter en una columna de SCX (Varian, 20 g). Enjuagar la columna con MeOH y CH₂Cl₂, y eluir el producto con una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y NH₃ 2 M/MeOH. Concentrar bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (1,28 g, cuantitativo). EM/EP m/z 322,2 (M+1).

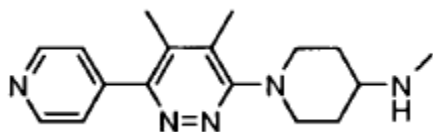
Preparar la *N*-metilaminopiperidina desprotegida en la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 7, utilizando la piperidina boc protegida apropiada.

Prep. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
8	1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)- <i>N</i> -metilpiperidin-4-amina		297,2 (M+1)

10

Preparación 9

1-(4,5-dimetil-6-(piridina-4-il)piridazin-3-il)-*N*-metilpiperidin-4-amina

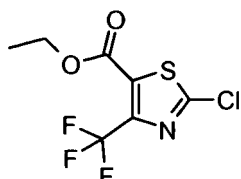


15

Añadir CH₂Cl₂ (20 ml) y ácido trifluoroacético (20 ml) a 1-(4,5-dimetil-6-(piridin-4-il)piridazin-3-il)piperidin-4-il(metil)carbamato de *terc-butilo* (1,19 g, 2,99 mmol). Agitar a temperatura ambiente durante 3 días. Concentrar bajo presión reducida para dar un residuo. Repartir el residuo entre CH₂Cl₂ y NaOH 1 N. Separar las capas, y extraer la capa acuosa dos veces con CH₂Cl₂. Combinar los extractos orgánicos, secar sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (790 mg, 89%). EM/EP m/z 298,2 (M+1).

Preparación 10

20 2-cloro-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo

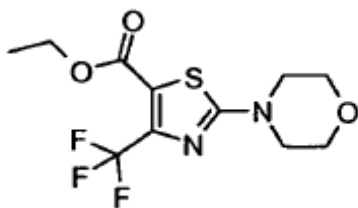


25

Tratar lentamente una mezcla a 0 °C de CuCl₂ (671 mg, 4,99 mmol) y nitrito de isopentilo (732 mg, 6,24 mmol) en acetonitrilo (10 ml) con 2-amino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo (1,0 g, 4,16 mmol). Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 hora. Calentar hasta 50 °C durante 1 hora. Eliminar la mayor parte de los disolventes, y verter en una mezcla de hielo y HCl concentrado. Extraer con CH₂Cl₂. Lavar la capa orgánica con salmuera, secar sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo resultante mediante cromatografía en gel de sílice (20:1 hexanos: EtOAc) para dar el compuesto del título (762 mg, 71%). RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1,26 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 4,31 (q, J = 7,0 Hz, 2H).

Preparación 11

30 2-morfolino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo



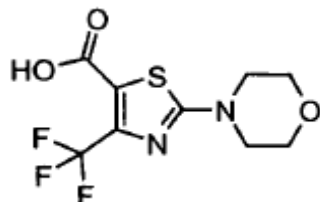
- 5 Añadir 2-cloro-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo (4,00 g, 15,4 mmol) a una solución de morfolina (4,03 g, 46,2 mmol) en DMSO (10 ml). Agitar la reacción a temperatura ambiente durante toda la noche. Añadir CH_2Cl_2 , y lavar la mezcla con H_2O . Secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4 , filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo resultante mediante cromatografía en gel de sílice (20:5:1 hexanos: EtOAc: NH_3 2 M /MeOH) para proporcionar el compuesto del título (4,58 g, 96%). EM/EP m/z 311,0 (M+1).

Preparar los ésteres de aminotiazol de la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento tal como se describe en la Preparación 11, utilizando la amina apropiada.

Prep. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
12	2-(dimetilamino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo		269,0 (M+1)
13	2-(dietilamino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo		297,0 (M+1)
14	2-(pirrolidin-1-il)-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo		295,0 (M+1)

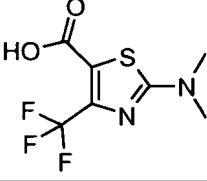
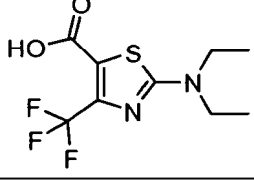
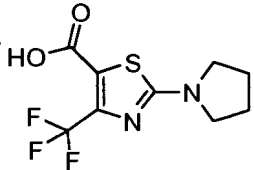
10 Preparación 15

Ácido 2-morfolino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxílico



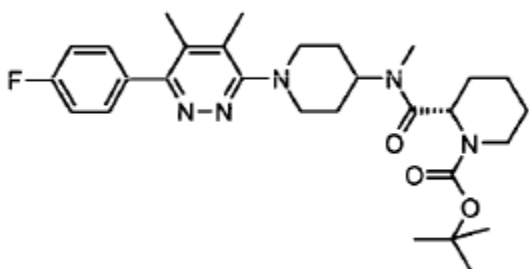
- 15 Añadir 2-morfolino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxilato de etilo (4,58 g, 14,8 mmol) a una mezcla de NaOH 1 N (20 ml) en MeOH (20 ml), y calentar la reacción hasta 50°C durante 1 hora. Concentrar la reacción bajo presión reducida, y añadir H_2O al residuo. Acidificar la mezcla hasta pH 4, y filtrar el sólido. Lavar el sólido con H_2O , y secar para obtener el compuesto del título (4,13 g, 99%). EM/EP m/z 283,0 (M+1).

Preparar los ácidos de aminotiazol de la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento tal como se describe en la Preparación 15, utilizando el éster apropiado.

Prep. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
16	Ácido 2-(dimetilamino)-4-(trifluorometil) tiazol-5-carboxílico		240,0 (M+1)
17	Ácido 2-(diethylamino)-4-(trifluorometil) tiazol-5-carboxílico		269,0 (M+1)
18	Ácido 2-(pirrolidin-1-il)-4-(trifluorometil) tiazol-5-carboxílico		267,0 (M+1)

Preparación 19

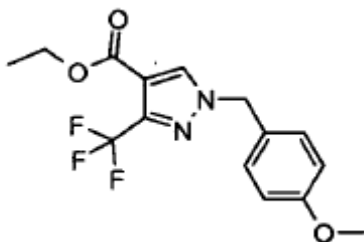
(S)-2-((1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)(metil)carbamoil)piperidina-1-carboxilato de *terc-butilo*



- 5 Tratar secuencialmente una solución de 1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-*N*-metilpiperidin-4-amina (100 mg, 0,318 mmol) en CH₂Cl₂ (3,2 ml) con ácido (S)-1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (109 mg, 0,477 mmol), trietilamina (0,067 ml, 0,477 mmol) y EDCI (92 mg, 0,477 mmol). Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 días. Verter la mezcla de la reacción en H₂O que contiene NaHCO₃. Separar las capas, y extraer la capa acuosa con CH₂Cl₂. Combinar las capas orgánicas, secar sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida.
- 10 Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 2% NH₃ 2 M/MeOH en CH₂Cl₂) para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (82 mg, 49%). EM/EP m/z 526,2 (M+1).

Preparación 20

1-(4-metoxibencil)-3-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo

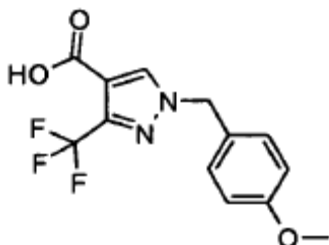


- 15 Añadir K₂CO₃ (503 mg, 3,60 mmol) a una solución de 3-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo (500 mg, 2,40 mmol) en acetona (8 ml) a temperatura ambiente bajo N₂. Añadir 1-bromometil-4-metoxibenceno (0,51 ml, 3,6 mmol) en gotas a la mezcla, y agitar durante toda la noche bajo N₂. Desactivar la reacción con H₂O, y extraer dos veces con EtOAc. Secar las capas orgánicas combinadas sobre MgSO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar

el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 15% EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (789 mg, cuantitativo). EM/EP m/z 351,0 (M+Na).

Preparación 21

Ácido 1-(4-metoxibencil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico



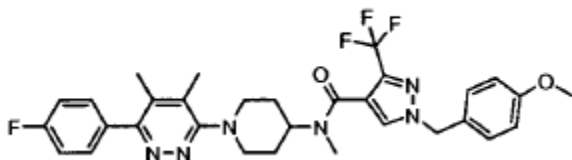
5

Añadir una solución de LiOH (122 mg, 5,03 mmol) en H₂O (3 ml) a una solución agitada de 1-(4-metoxibencil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (550 mg, 1,68 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml). Agitar durante toda la noche a temperatura ambiente. Acidificar hasta pH 5 con HCl 1 N y extraer con CH₂Cl₂ y 2X con 20% iPrOH en CHCl₃. Secar las capas orgánicas combinadas con MgSO₄, filtrar y concentrar bajo presión reducida para obtener 140 mg del compuesto del título como un sólido blanco. Acidificar la capa acuosa hasta pH 2-3 con HCl 1 N, y extraer dos veces con 20% iPrOH en CHCl₃. Secar los extractos combinados sobre MgSO₄, filtrar, y añadir la solución a los 140 mg de sólidos blancos inicialmente obtenidos. Concentrar para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (426 mg, 85%). EM/EP m/z 299,0 (M-1).

10

Preparación 22

15 *N*-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-1-(4-metoxibencil)-*N*-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida



20

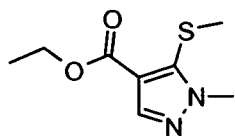
Añadir PyBOP (343 mg, 0,65 mmol) y trietilamina (0,21 ml, 1,50 mmol) a una solución agitada de 1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-*N*-metilpiperidin-4-amina (157 mg, 0,50 mmol) y ácido 1-(4-metoxibencil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (165 mg, 0,55 mmol) en DMF anhidro (2,5 ml). Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente bajo N₂ durante toda la noche. Concentrar, añadir MeOH, filtrar los sólidos, y concentrar el filtrado. Diluir el residuo con MeOH, verter en una columna de SCX (Thermo Scientific, 10 g). Lavar con MeOH, y después eluir el producto con NH₃/MeOH 2 M. Concentrar y purificar mediante cromatografía en gel de sílice utilizando un gradiente de 0 a 10% (10 % NH₃ 2 M/MeOH en EtOAc) en hexanos para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (170 mg, 43%). EM/EP

25

m/z 597,0 (M+1).

Preparación 23

1-metil-5-(metiltio)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



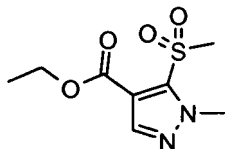
30

Añadir nitrito de isopentilo (0,5 ml, 3,75 mmol) a una solución agitada a 5°C de 1-metil-5-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (1,69 g, 10,0 mmol) y disulfuro de dimetilo (1,79 ml, 20,0 mmol) en CHCl₃ bajo nitrógeno en un frasco de 3 bocas equipado con un termómetro y un condensador. Permitir que la reacción se caliente hasta 20°C en un baño de H₂O, y tratar con nitrito de isopentilo adicional (1,5 ml, 11,3 mmol) en gotas. Después de 15 minutos, eliminar la reacción del baño de H₂O a 20°C (exoterma eleva la temperatura hasta 50°C durante aproximadamente 1

minuto). Agitar a temperatura ambiente bajo N₂ durante toda la noche. Lavar con H₂O, y separar las capas. Extraer la capa acuosa con CHCl₃, combinar las capas orgánicas, secar sobre MgSO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 35% EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,94 g, 97%). EM/EP m/z 201,0 (M+1).

5 Preparación 24

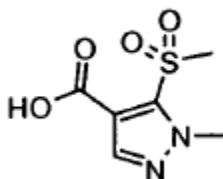
1-metil-5-(metilsulfonil)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo



Combinar 1-metil-5-(metiltio)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo (1,68 g, 8,39 mmol), ácido acético glacial (11 ml), y peróxido de hidrógeno (5,10 ml, 50,3 mmol) y calentar la mezcla resultante a 100 °C durante 1,5 horas. Dejar que la reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y agitar durante toda la noche. Añadir hielo y extraer dos veces con CH₂Cl₂. Combinar las capas orgánicas, secar sobre MgSO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 50% EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,95 g, 100%). EM/EP m/z 233,0 (M+1).

Preparación 25

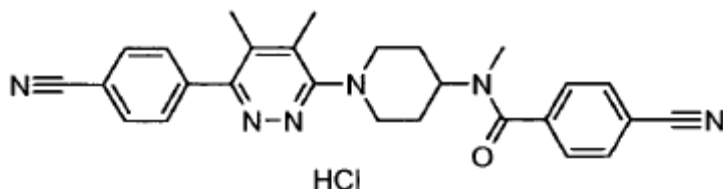
15 Ácido 1-metil-5-(metilsulfonil)-1*H*-pirazol-4-carboxílico



Añadir una solución de LiOH (22 mg, 0,90 mmol) en H₂O (1 ml) a una solución de rápida agitación de 1-metil-5-(metilsulfonil)-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo (175 mg, 0,75 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml) a temperatura ambiente. Tratar la mezcla de la reacción con LiOH adicional (5 mg, 0,21 mmol), y agitar durante toda la noche. Acidificar hasta pH 2 con HCl 1 N, y extraer dos veces con CH₂Cl₂. Combinar las capas orgánicas, secar sobre MgSO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (98 mg, 64%). EM/EP m/z 202,9 (M-1).

Ejemplo 1

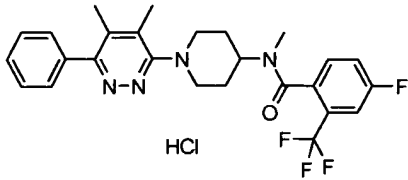
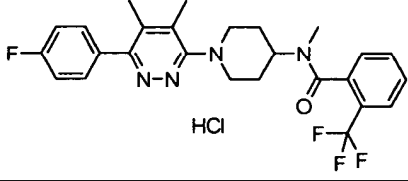
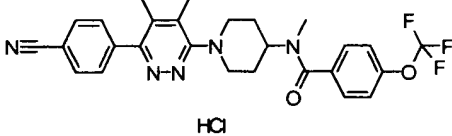
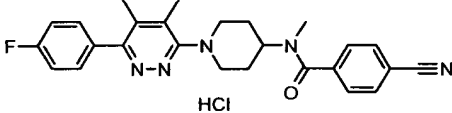
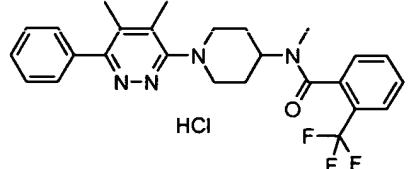
Hidrocloruro de 4-ciano-*N*-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metilbenzamida

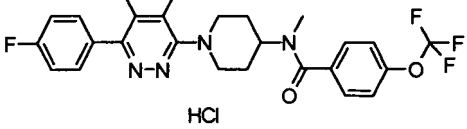
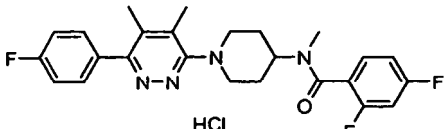
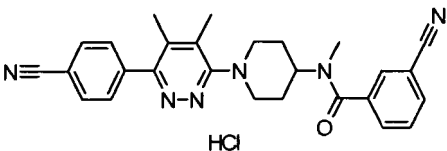
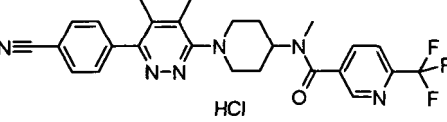
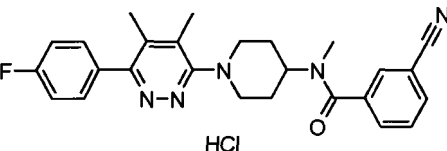
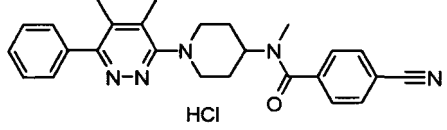
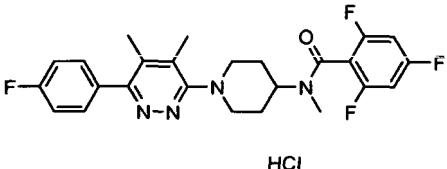


Tratar una solución de 4-(4,5-dimetil-6-(4-(metilamino)piperidin-1-il)piridazin-3-il)benzonitrilo (90 mg, 0,28 mmol) y trietilamina (0,12 ml, 0,84 mmol) en CH₂Cl₂ (2,8 ml) con cloruro de 4-cianobenzilo (56 mg, 0,34 mmol). Agitar la reacción a temperatura ambiente durante toda la noche. Lavar con H₂O y separar las capas. Purificar directamente la capa orgánica mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 2% NH₃ 2 M/MeOH en CH₂Cl₂). Concentrar para proporcionar un sólido blanco. Disolver el material en MeOH y añadir 1,1 equivalente de HCl metanólico (preformarlo vertiendo en gotas cloruro de acetilo en MeOH). Concentrar la mezcla bajo una corriente de N₂ gaseoso y secar el residuo en un horno al vacío a 45 °C para obtener el compuesto del título como sólido amarillo (130 mg, 95%). EM/EP m/z 451,2 (M+1).

Preparar las piperadinilamidas de la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el cloruro de ácido apropiado con tiempos de reacción que varían de 6 horas a 3 días. Para los Ejemplos 7, 8 y 13, utilizar HCl 1 M en exceso en Et₂O para formar las sales. Para el Ejemplo 10, utilizar 3

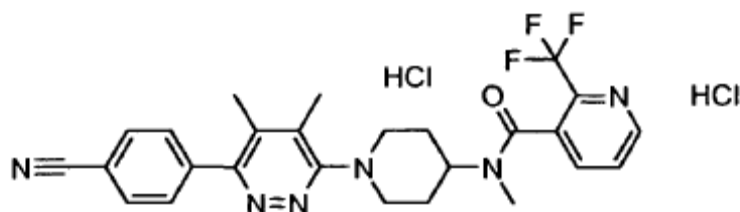
equivalentes de HCl metanólico preformado para formar la sal.

Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
2	Hidrocloruro de N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-4-fluoro-N-metil-2-(trifluorometil)benzamida		487,2 (M+1)
3	Hidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(trifluorometil)benzamida		487,2 (M+1)
4	Hidrocloruro de N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometoxi)benzamida		510,2 (M + 1)
5	Hidrocloruro de N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometoxi)benzamida		444,2 (M+1)
6	Hidrocloruro de N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(trifluorometil)benzamida		469,2 (M+1)

Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP ; m/z
7	Hidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometoxi)benzamida		503,2 (M+1)
8	Hidrocloruro de 2,4-difluoro-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metilbenzamida		455,0 (M+1)
9	Hidrocloruro de 3-ciano-N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metilbenzamida		451,2 (M+1)
10	Hidrocloruro de N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-6-(trifluorometil)nicotinamida		495,2 (M+1)
11	Hidrocloruro de 3-ciano-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metilbenzamida		444,2 (M+1)
12	Hidrocloruro de 4-ciano-N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metilbenzamida		426,2 (M+1)
13	Hidrocloruro de 2,4,6-trifluoro-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metilbenzamida		473,0 (M+1)

Ejemplo 14

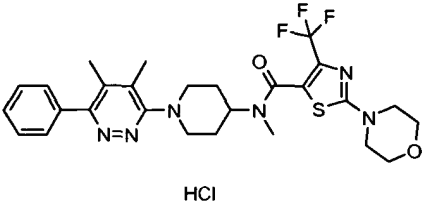
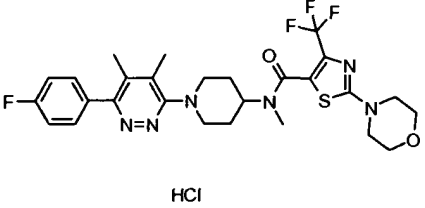
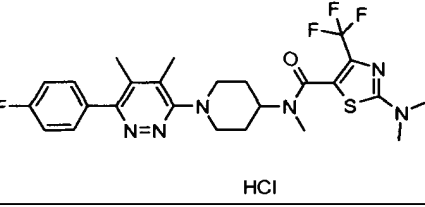
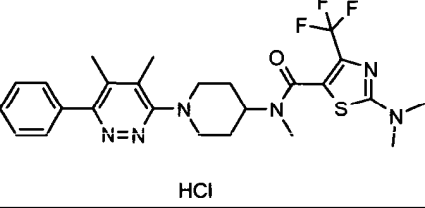
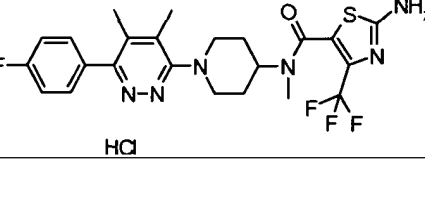
Dihidrocloruro de N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(trifluorometil)nicotinamida



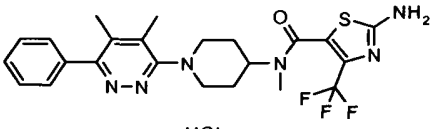
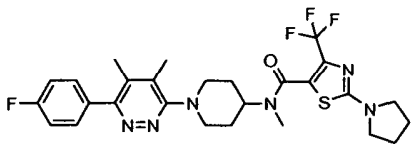
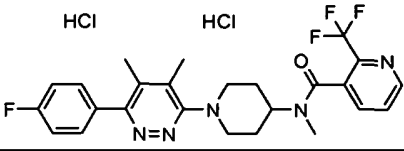
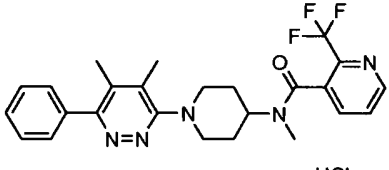
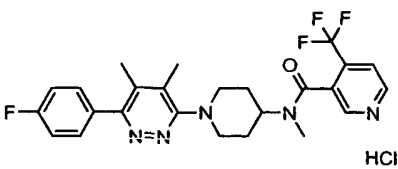
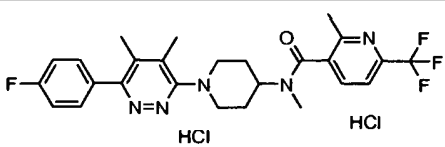
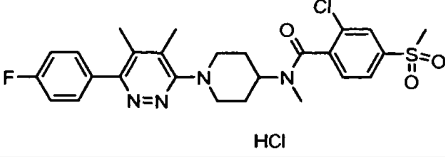
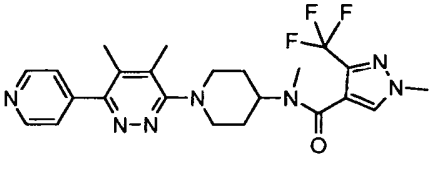
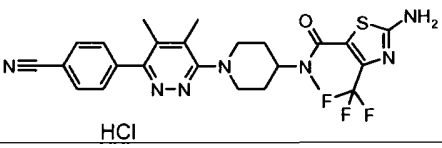
- 5 Combinar 4-(4,5-dimetil-6-(4-(metilamino)piperidin-1-il)piridazin-3-il)benzonitrilo (102 mg, 0,32 mmol), ácido 2-(trifluorometil)nicotínico (70 mg, 0,38 mmol), y trietilamina (0,13 ml, 0,96 mmol) en DMF (10 ml). Añadir PyBOP (200 mg, 0,38 mmol) a la mezcla y agitar durante toda la noche a temperatura ambiente. Añadir CH₂Cl₂ a la mezcla de la reacción y lavar con salmuera. Secar la fase orgánica sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo resultante mediante cromatografía en gel de sílice (20:5:1 hexanos: EtOAc: NH₃ 2 M/MeOH).
- 10 Añadir HCl 1 M en exceso en Et₂O a una solución de la base libre en CH₂Cl₂/MeOH, y evaporar los disolventes bajo N₂ gaseoso para proporcionar el compuesto del título (103 mg, 57%). EM/EP m/z 495,2 (M+1).

Procedimiento de acoplamiento alternativo:

- 5 Combinar 4-(4,5-dimetil-6-(4-(metilamino)piperidin-1-il)piridazin-3-il)benzonitrilo (300 mg, 0,93 mmol), ácido 2-(trifluorometil)nicotínico (210 mg, 1,12 mmol) y diisopropiletamina (0,79 ml, 4,51 mmol) en una mezcla 4:1 de DMF y DMSO (20 ml). Calentar la mezcla brevemente a 60°C para disolver los sólidos, y después enfriar hasta 0°C. Añadir una solución de difenilfosfinato de perfluorofenilo (750 mg, 1,96 mmol) en una mezcla 4:1 de DMF y DMSO (1 ml) en gotas. Calentar la mezcla resultante a 60°C durante toda la noche. Repartir la mezcla de la reacción entre solución acuosa de NaHCO₃ y CH₂Cl₂. Lavar la capa orgánica con salmuera, secar sobre Na₂SO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo resultante mediante cromatografía en gel de sílice (20:5:1 hexanos: EtOAc: NH₃ 2 M/MeOH) para proporcionar la base libre del compuesto del título (346 mg, 75%). EM/EP m/z 495,2 (M+1). Formar la sal de HCl tal como se describe más arriba.
- 10 Preparar las piperidinil amidas en la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el primer procedimiento para el Ejemplo 14, utilizando la dimetil piridazina y ácido carboxílico apropiados. Para el Ejemplo 28, utilizar 1,1 equivalentes de HCl 1 M en MeOH (preformar haciendo gotear cloruro de acetilo en MeOH) después concentrar para proporcionar la sal de monohidrocloreuro. Para el Ejemplo 28, seguir el procedimiento alterno del Ejemplo 14.

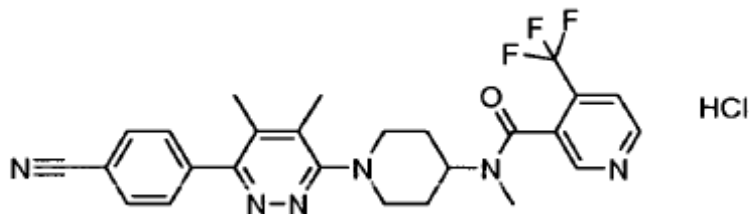
Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
15	Hidrocloreuro de N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-morfolino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxamida		560,8 (M+1)
16	Hidrocloreuro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-morfolino-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxamida		578,8 (M+1)
17	Hidrocloreuro de 2-(dimetilamino)-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxamida		537,2 (M+1)
18	Hidrocloreuro de N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(dimetilamino)-N-metil-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxamida		518,8 (M+1)
19	Hidrocloreuro de 2-amino-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometil)tiazol-5-carboxamida		509,0 (M+1)

15

Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
20	Hidrocloruro de 2-amino-N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometil)-5-carboxamida	 HCl	491,0 (M+1)
21	Dihidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(pirrolidin-1-il)-4-(trifluorometil) tiazol-5-carboxamida	 HCl HCl	563,2 (M+1)
22	Dihidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(trifluorometil) nicotinamida	 HCl HCl	488,2 (M+1)
23	Dihidrocloruro de N-(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-2-(trifluorometil) nicotinamida	 HCl HCl	470,2 (M+1)
24	Dihidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometil) nicotinamida	 HCl HCl	488,2 (M+1)
25	Dihidrocloruro de N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-,2-dimetil-6-(trifluorometil) nicotinamida	 HCl HCl	502,2 (M+1)
26	Hidrocloruro de 2-cloro-N-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(metilulfonil) benzamida	 HCl	531,2 (M+1)
27	Hidrocloruro de N-(1-(4,5-dimetil-6-(piridin-4-il)-piridazin-3-il)piperidin-4-il)-N,1-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida	 HCl	474,2 (M+1)
28	Hidrocloruro de 2-amino-N-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dietilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-N-metil-4-(trifluorometil) tiazol-5-carboxamida	 HCl	516,2 (M+1)

Ejemplo 29

Hidrocloreto de *N*-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metil-4-(trifluorometil)nicotinamida

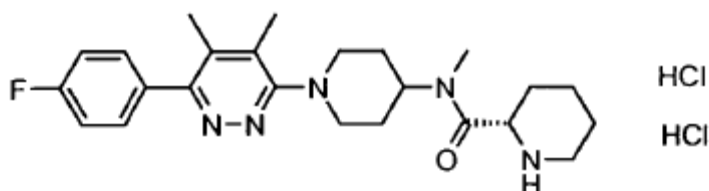


- 5 Tratar una solución de 4-(4,5-dimetil-6-(4-(metilamino)piperidin-1-il)piridazin-3-il)benzocnitrilo (102 mg, 0,32 mmol), ácido 4-(trifluorometil)nicotínico (81 mg, 0,42 mmol), trietilamina (0,07 ml, 0,5 mmol) en CH_2Cl_2 (4 ml) con EDCI (99 mg, 0,52 mmol) y agitar durante 3 días. Verter la mezcla de la reacción en H_2O y extraer con EtOAc. Lavar la capa orgánica con H_2O , secar sobre Na_2SO_4 , filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 10% MeOH en CH_2Cl_2). Disolver la base libre en MeOH (2 ml) y añadir HCl 1 M en Et_2O (0,5 ml). Concentrar para proporcionar el compuesto del título (82 mg, 49%). EM/EP m/z 495,2 (M+1).
- 10 Preparar las piperidinil amidas de la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 29, utilizando el ácido carboxílico apropiado. Para los Ejemplos 31-33, agitar durante toda la noche. Para formar las sales de HCl en los Ejemplos 31-33, disolver la base libre correspondiente en MeOH y añadir 1,1 equivalentes de HCl metanólico (preformar haciendo gotear cloruro de acetilo en MeOH) después concentrar.

Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
30	Hidrocloreto de <i>N</i> -(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)- <i>N</i> -metil-4-(trifluorometil)-nicotinamida		470,2 (M+1)
31	Hidrocloreto de 4,4-difluoro- <i>N</i> -(1-(6(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)- <i>N</i> -metilciclohexanocarboxamida		461,2 (M+1)
32	Hidrocloreto de <i>N</i> -(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-4,4-difluoro- <i>N</i> -metilciclohexanocarboxamida		468,2 (M+1)
33	Hidrocloreto de <i>N</i> -(1-(4,5-dimetil-6-fenilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-4,4-difluoro- <i>N</i> -metilciclohexanocarboxamida		443,2 (M+1)

15 Ejemplo 34

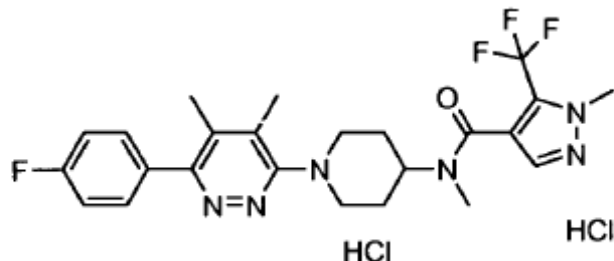
Dihidrocloreto de (*S*)-*N*-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metilpiperidina-2-carboxamida



- 20 Añadir HCl 4 M en 1,4-dioxano (1,00 ml, 4,00 mmol) a una solución de (*S*)-2-((1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)(metil)carbamoil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (80 mg, 0,152 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml). Agitar la mezcla resultante durante 4 horas a temperatura ambiente. Concentrar bajo presión reducida y secar el residuo en un horno al vacío a 45°C para proporcionar el compuesto del título como una espuma amarilla pálida (79 mg, cuantitativo). EM/EP m/z 426,2 (M+1).

Ejemplo 35

Dihidrocloruro de *N*-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*,1-dimetil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxamida



- 5 Disolver 1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-*N*-metilpiperidin-4-amina (800 mg, 4,12 mmol) en DMF (25 ml). Añadir ácido 1-metil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxílico (1,08 g, 3,44 mmol), trietilamina (1,44 ml, 10,3 mmol) y PyBOP (2,68 g, 5,15 mmol). Agitar a temperatura ambiente durante 3 horas. Concentrar la mezcla de la reacción y purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice utilizando un gradiente de 0-100% (5:1 EtOAc: NH₃ 2 M/MeOH) en hexanos. Disolver el producto aislado en CH₂Cl₂ (10 ml) y añadir HCl 2 M en Et₂O (8 ml). Eliminar los
- 10 disolventes bajo una corriente de N₂ y secar en una estufa al vacío a 50°C durante toda la noche para proporcionar el compuesto del título (612 mg, 32%). EM/EP (m/z) 491,2 (M+1).

Preparar las amidas de la tabla de más abajo siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 34, utilizando el ácido carboxílico apropiado. Purificar el Ejemplo 36 sobre una columna de SCX (eluyendo con NH₃ 2 M/MeOH) seguido por la cromatografía flash.

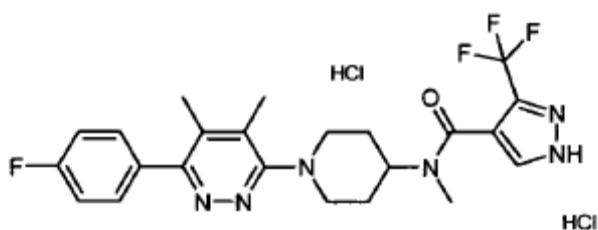
Ej. N°	Nombre Químico	Estructura	EM/EP m/z
36	Dihidrocloruro de <i>N</i> -(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)- <i>N</i> ,1-dimetil-3-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamida		491,2 (M+1)

15

Ej. N°	Nombre químico	Estructura	EM/EP m/z
37	Hidrocloruro de <i>N</i> -(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)- <i>N</i> ,1-dimetil-5-(metilulfonil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamida		501.0 (M+1)

Ejemplo 38

Dihidrocloruro de *N*-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metil-3-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxamida



20

Añadir ácido trifluoroacético (10 ml) a *N*-(1-(6-(4-fluorofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-1-(4-metoxibencil)-*N*-metil-3-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-4-carboxamida (99 mg, 0,12 mmol) y calentar a reflujo bajo N₂ durante toda la

5 noche. Concentrar bajo presión reducida. Disolver el residuo en iPrOH al 20% en CHCl₃, y lavar con solución acuosa saturada de Na₂CO₃. Extraer la capa acuosa con iPrOH al 20% en CHCl₃. Combinar las capas orgánicas, secar sobre MgSO₄, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 10% NH₃ 2 M/MeOH en CH₂Cl₂). Disolver la base libre purificada en CH₂Cl₂ (2 ml) y añadir HCl 1 M en Et₂O (0,5 ml) en gotas. Agitar durante 30 minutos. Concentrar y secar en un horno al vacío a 50°C durante toda la noche para proporcionar el compuesto del título (55 mg, 60%). EM/EP m/z 477,0 (M+1).

Biología

10 Hedgehog ha estado implicado como un factor de supervivencia para los siguientes cánceres: carcinoma de células basales; cánceres del tracto gastrointestinal superior (esófago, estómago, páncreas, y tracto biliar); cáncer de próstata; cáncer de mama; cáncer pulmonar de células pequeñas; cáncer pulmonar de células no pequeñas; linfoma de célula B; mieloma múltiple; cáncer gástrico; cáncer de ovario; cáncer colorrectal; cáncer de hígado; melanoma; cáncer de riñón; and cáncer cerebral.

15 Se ha afirmado que los elementos de la vía de hedgehog son potenciales dianas farmacológicas para el tratamiento de cánceres. Una línea celular Daoy establecida desde el tumor de meduloblastoma (ATCC, HTB-186), es sensible a los ligandos de Hh. Cuando estas células son tratadas con medio condicionado con Shh añadido en forma exógena, la vía de señalización de Hh se activa y da como resultado un incremento en la expresión de *Gli1*. Ciclopamina, un alcaloide aislado de lily *Veratrum californicum de maíz* es un antagonista débil de hedgehog y se ha demostrado que suprime la expresión de *Gli1* en repuesta a la estimulación de Shh. Observaciones recientes sugieren que la ciclopamina inhibe el crecimiento de células de meduloblastoma cultivada y aloinjertos. Utilizando este sistema
20 modelo de células Daoy, pueden identificarse inhibidores potentes de las vías de señalización hedgehog. Debido a que los compuestos de la presente invención son antagonistas de hedgehog, los mismos son apropiados para tratar los tipos de tumor mencionados más arriba.

Determinación de CI₅₀ de la actividad biológica

25 El siguiente protocolo de ensayo y los resultados del mismo además demuestran la utilidad y eficacia de los compuestos y procedimientos de la presente invención. Los ensayos funcionales respaldan que los compuestos de la presente invención exhiben la capacidad de inhibir la señalización de Shh. Todos los ligandos, disolventes, y reactivos empleados en el siguiente ensayo están fácilmente disponibles a partir de fuentes comerciales o pueden ser preparados fácilmente por uno con experiencia en la técnica.

30 La actividad biológica se determina utilizando un ensayo funcional en células de cáncer neuronal Daoy y miden los niveles del ácido ribonucleico de *Gli1* a través de un sistema de ensayo de ADNb (ácido deoxirribonucleico ramificado) (Panomics, Inc., Fremont, CA). *Gli1* se descubrió originalmente en una línea celular de Glioblastoma y codifica una proteína con dedo de zinc que es activada por la señalización de Shh.

35 La máxima respuesta se obtiene induciendo la transcripción de *Gli1* en las células Daoy con medio condicionado (riñón embrionario humano, células HEK-293 que expresan en forma estable Shh recombinante) durante 24 horas y midiendo después la cantidad de transcripción de *Gli1* estimulada. La respuesta mínima es la cantidad de transcripción de *Gli1* inhibida con un compuesto de control en células Daoy que han sido estimuladas con medio condicionado (riñón embrionario humano, células HEK-293 que expresan en forma estable Shh recombinante) durante 24 horas.

Ensayo funcional para medir la inhibición de *Gli1* en células Daoy

40 El sistema de ensayo de ADNb utiliza la tecnología de ADN de cadena ramificada para permitir la amplificación de un ácido ribonucleico diana (transcrito). La tecnología emplea tres tipos de sondas de ADNc específicas de *Gli1* cortas híbridas sintéticas que determinan la especificidad del transcrito diana [prolongadores de captura (CE), prolongadores de marcador (LE), y bloqueadores (BL)] que se hibridan como un complejo con la copia diana para
45 amplificar la señal de hibridación. La adición de un sustrato quimioluminogénico durante la etapa de amplificación permite la detección utilizando luminiscencia.

La línea celular Daoy obtenida de la colección de cultivo tipo norteamericana (ATCC) es una línea de células tumorales neuronales humanas sensibles al Shh y se estableció en 1985 a partir de un tumor de meduloblastoma cerebeloso desmoplásico, una línea de células tumorales fisiológicamente idóneos. Los niveles endógenos de los niveles de transcripción de *Gli1* son bajos en la células Daoy pero pueden estimularse utilizando medio condicionado
50 tomado de células que sobreexpresan en forma estable Shh humano (una línea de células HEK-293 transfectadas en forma estable con hShh).

Las células Daoy se hacen crecer hasta la confluencia en los frascos T225 de cultivo tisular Daoy en medio de crecimiento que contiene Medio Esencial Mínimo (MEM) más Cuero Fetal Bovino al 10% (FBS) con 0,1 nM aminoácidos no esenciales y 1 mM de piruvato de sodio. Las células se eliminan de los frascos T225 utilizando ácido
55 tripsina etilendiaminotetraacético (EDTA), se centrifugan, se resuspenden en medio, y después se cuentan.

Las células Daoy después se siembran en 50,000 células por pocillo en medio de crecimiento en placa de cultivo de

tejido de 96 pocillos Costar y se deja que se incuben durante toda la noche a 37°C bajo dióxido de carbono al 5% (CO₂). Las células se lavan una vez en solución salina tamponada con fosfato (PBS) seguido por la adición de 100 µl de Medio Condicionado de Shh (Shh-CM) para estimular los niveles de expresión de *Gli1*. Shh-CM se diluye para lograr la máxima estimulación utilizando medio de crecimiento de control - 0,1 % FBS/DMEM (Medio Modificado Eagle de Dulbecco). Las células Daoy tratadas con Shh-CM después se tratan con diversas concentraciones de inhibidores de hedgehog que varían de aproximadamente 1 µM a 0,1 nM. Se deja que los compuestos de ensayo se incuben durante 24 horas a 37°C bajo CO₂ al 5%.

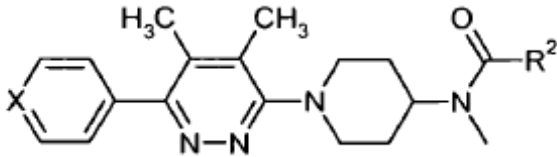
La medición de la transcripción de *Gli1* se realiza utilizando el ensayo de *Gli1* Quantigene 2.0 según lo descrito por el fabricante (Panomics, Inc.). Preparar un tampón de mezcla de lisis diluida (DLM), que incluye Proteinasa K. Después de 24 horas de incubación con el compuesto, las células se lavan una vez con PBS y se añaden 180 µl de DLM a las células. La placa de células que contiene el tampón de lisis se sella y se coloca a 55°C durante 30 a 45 minutos. Los lisados de células resultantes después se trituran 5 veces. Un conjunto de sonda de trabajo que contiene sondas de *Gli1* se realiza diluyendo las sondas en el DLM n conformidad con las instrucciones del fabricante, y después se añaden 20 µl del conjunto de sonda de trabajo a las placas de ensayo de ADNb junto con 80 µl de los lisados Daoy. Las placas se sellan se incuban durante toda la noche a 55°C. La placas de ADNb después se procesan en conformidad con las instrucciones del fabricante. La señal se cuantifica mediante la lectura de las placas en un lector Perkin Elmer Envision que detecta la luminescencia. La señal luminescente es directamente proporcional a la cantidad de copia diana presente en la muestra.

Los datos de señal luminescente del ensayo funcional se utilizan para calcular la CI₅₀ para el ensayo *in vitro*. Los datos se calculan en base a los valores de control máximos (células Daoy tratadas con Shh-CM) y el valor de control mínimo (células Daoy tratadas con Shh-CM y una concentración inhibidora de un compuesto de control, 1 µM de N-(3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida). Se utiliza un ajuste de curva logística de cuatro parámetros para generar los valores CI₅₀ utilizando los programas software ActivityBase versión 5,3, ecuación 205 (*Assay Guidance Manual Versión 5,0*, 2008, Eli Lilly and Company y NIH Chemical Genomics Center).

Siguiendo el protocolo descrito, los compuestos de la invención ejemplificados en la presente memoria muestran una CI₅₀ < 15 nM. Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 14 tiene una CI₅₀ de aproximadamente 1,27 nM con un error estándar de 0,114 (n=4) y el compuesto del Ejemplo 34 tiene una CI₅₀ de aproximadamente 1,22 nM con un error estándar 0,293 (n = 3) en el ensayo descrito más arriba. Estos resultados proporcionan evidencia de que los compuestos de la presente invención son antagonistas de hedgehog y, como tales, son útiles como agentes anticancerosos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente fórmula:

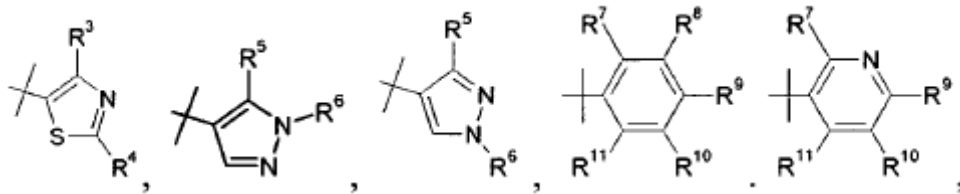


5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

X es C-R¹ o N;

R¹ es hidrógeno, flúor o ciano;

R² es



10 piperidinilo, o ciclohexilo sustituido con gem di-F;

R³ es metilo o trifluorometilo;

R⁴ es pirrolidinilo, morfolinilo, piridilo, amino o dimetilamino;

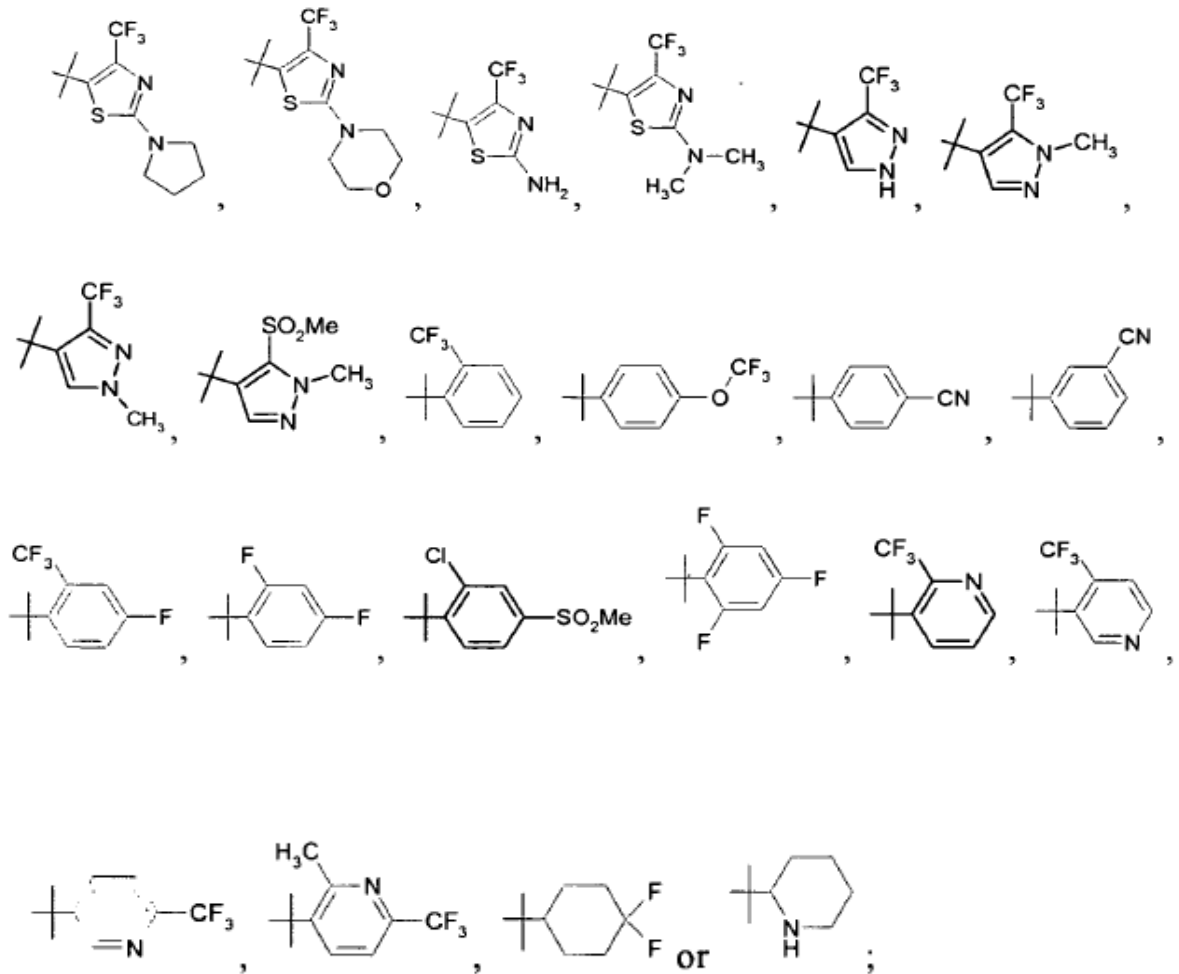
R⁵ es trifluorometilo o metilsulfonylo;

R⁶ es hidrógeno o metilo; y

15 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ son independientemente hidrógeno, flúor, ciano, cloro, metilo, trifluorometilo, trifluorometoxi o metilsulfonylo, siempre que al menos dos de R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ sean hidrógeno.

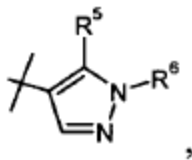
2. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 en el que X es C-R¹, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 o 2 en el que R² es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

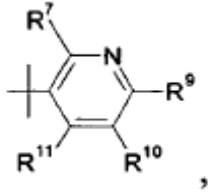
5. 4. El compuesto en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que X es C-R¹ y R¹ es flúor, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
5. El compuesto en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que X es C-R¹ y R¹ es ciano, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2 en el que R² es



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que R² es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto en conformidad con la reivindicación 6 en el que R⁵ es trifluorometilo y R⁶ es metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 5 9. El compuesto en conformidad con la reivindicación 7 en el que R⁷ es trifluorometilo y R⁹, R¹⁰, y R¹¹ son hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
10. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 que es *N*-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metil-2-(trifluorometil)nicotinamida.
- 10 11. El compuesto en conformidad con la reivindicación 1 que es dihidrocloruro de *N*-(1-(6-(4-cianofenil)-4,5-dimetilpiridazin-3-il)piperidin-4-il)-*N*-metil-2-(trifluorometil)nicotinamida.
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 13. Un compuesto en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.
14. Un compuesto en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 20 15. El compuesto o sal para su uso en conformidad con la reivindicación 14 en el que el cáncer es seleccionado del grupo constituido por cáncer cerebral, carcinoma de células basales, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer del tracto biliar, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer pulmonar de células no pequeñas, linfoma de linfocitos B, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón y melanoma.