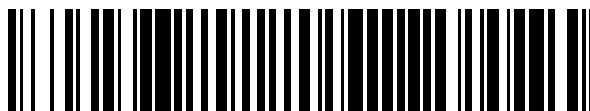


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 400 257**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/52** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2007** **E 07756113 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012** **EP 2010186**

54 Título: **Aminopurinas sustituidas con haloarilo, sus composiciones y métodos de tratamiento asociados**

30 Prioridad:

**26.04.2006 US 411413**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**08.04.2013**

73 Titular/es:

**SIGNAL PHARMACEUTICALS LLC (100.0%)  
4550 TOWNE CENTRE COURT  
SAN DIEGO, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**ALBERS, RONALD, J.;  
AYALA, LETICIA;  
CLAREEN, STEVEN, S.;  
DELGADO MEDEROS, MARIA, MERCEDES;  
HILGRAF, ROBERT;  
HEGDE, SAYEE, G.;  
HUGHES, KEVIN;  
KOIS, ADAM;  
PLANTEVIN-KRENITSKY, VERONIQUE;  
MCCARRICK, MEG;  
NADOLNY, LISA;  
PALANKI, MOORTHY, S.S.;  
SAHASRAMUDHE, KIRAN ;  
SAPIENZA, JOHN;  
SATOH, YOSHITAKA;  
SLOSS, MARIANNE, K.;  
SUDBECK, ELISE y  
WRIGHT, JONATHAN**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 400 257 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

Aminopurinas sustituidas con haloarilo, sus composiciones y métodos de tratamiento asociados

5 En la presente memoria se proporcionan ciertos compuestos de purina sustituidos con amino para su uso en el tratamiento o prevención de resistencia a la insulina, diabetes Tipo I de aparición lenta, diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, diabetes de aparición en la edad madura, diabetes juvenil, diabetes dependiente de la insulina, diabetes no dependiente de la insulina, diabetes relacionada con la desnutrición, diabetes propensa a la cetosis, pre-diabetes, diabetes relacionada con fibrosis cística, diabetes resistente a la cetosis, fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis hepática, esteatofibrosis o esteatohepatitis.

10 La conexión entre la fosforilación anormal de proteínas y la causa o consecuencia de enfermedades se ha conocido por más de 20 años. Por consiguiente, las proteínas cinasas se han vuelto un grupo muy importante de diana farmacológicas. Véase Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002). Clínicamente se han utilizado diversos inhibidores de proteínas cinasas en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, tal como cáncer y enfermedades inflamatorias crónicas, incluyendo diabetes y apoplejía. Véase Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001).

15 Las proteínas cinasas son una gran y diversas familias de enzimas que catalizan la fosforilación de proteínas y juegan un papel crítico en la señalización celular. Las proteínas cinasas pueden ejercer efectos reguladores positivos o negativos, dependiendo de su proteína diana. Las proteínas cinasas están involucradas en vías de señalización específicas que regulan funciones celulares tales como, pero sin limitarse a, metabolismo, avance del ciclo celular, adhesión celular, función vascular, apoptosis, y angiogénesis. Las funciones defectuosas de la señalización celular se han asociado a muchas enfermedades, donde las más caracterizadas incluyen cáncer y diabetes. La regulación de la transducción de señal por citocinas y la asociación de las moléculas de señales con la protooncogenes y genes supresores de tumores han sido bien documentados. En forma similar, se ha demostrado la conexión entre la diabetes y afecciones relacionadas, y los niveles regulados de proteínas cinasas. Véase por ejemplo, Sridhar et al *Pharmaceutical Research*, 17(11):1345-1353 (2000). Las infecciones virales y las afecciones relacionadas a las mismas también se han asociado a la regulación de proteínas cinasas, Park et al. *Cell* 101 (7), 25 777-787 (2000).

Las proteínas cinasas se pueden dividir en amplio grupos en base a la identidad de los aminoácidos a los que está dirigidas (serina/treonina, tirosina, lisina, y histidina). Por ejemplo, las tirosinas cinasas incluyen tirosinas cinasas receptoras (RTKS), tal como factores de crecimiento y tirosinas cinasas no receptoras, tal como la familia src cinasa. Existen también proteínas cinasas específicas duales que se dirigen a la tirosina y serina/treonina, tal como cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) y proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs). Cualquier célula particular contiene muchas proteínas cinasas, algunas de las que fosforilan otras proteínas cinasas. Algunas proteínas cinasas fosforilan muchas proteínas diferentes, otras fosforilan solamente una única proteína. En forma no sorprendente, existen numerosas clases de proteínas cinasas. Al recibir una señal, algunas proteínas también pueden pasar por auto-fosforilación.

35 Las proteínas tirosinas cinasas (PTKs) componen una gran familia de cinasas que regulan las señales célula a célula involucradas en el crecimiento, diferenciación, adhesión, motilidad, y muerte. Robinson et al., *Oncogene* 19:5548-5557 (2000). Los miembros de la tirosina cinasa incluyen, pero no se limitan a, Yes, BMX, Syk, EphA1, FGFR3, RYK, MUSK, JAK1 y EGFR. Las tirosinas cinasas se dividen en dos clases, es decir, las tirosinas cinasas de tipo receptor y tipo no receptor. En forma interesante, la totalidad de la familia de tirosinas cinasas es bastante grande – consistiendo en al menos 90 cinasas caracterizadas con al menos 58 cinasas de tipo receptor y la menos 32 cinasas de tipo no receptor que comprenden al menos 30 subfamilia totales. Robinson et al., *Oncogene* 19:5548-5557 (2000). Las tirosinas cinasas han estado implicadas en un número de enfermedades en seres humanos, incluyendo diabetes y cáncer. Robinson et al. en la página 5548. Las tirosinas cinasas a menudo están involucradas en la mayoría de las formas de malignidades humanas y han estado ligadas a una amplia variedad de síndromes congénitos. Robertson et al., *Trends Genet.* 16:265-271 (2000).

50 Las tirosinas cinasas no receptoras representan un grupo de enzimas intracelulares que carecen de secuencias extracelulares y de transmembrana. Actualmente, se han identificado más de 32 familias de tirosinas cinasas no receptoras. Robinson et al., *Oncogene* 19:5548-5557 (2000). Los ejemplos son las familias Src, Btk, Csk, ZAP70, Kak. En particular, la familia Src de la familia de tirosinas cinasas no receptoras es la más grande, que consiste en proteínas tirosinas cinasas Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Blk, Hck, Fgr y Yrk. La familia Src de cinasas ha estado ligada a la oncogénesis, proliferación celular y avance tumoral. Un debate detallado de proteínas tirosinas cinasas no receptoras está disponible en *Oncogene* 8:2025-2031 (1993). Se ha descubierto que muchas de estas proteínas tirosinas cinasas están involucradas en la vías de señalización celular involucradas en diversas afecciones patológicas incluyendo pero sin limitarse a cáncer y trastornos hiperproliferativos y trastornos inmunes.

55 Las cinasas dependientes de ciclinas CDKs representan un grupo de enzimas intracelulares que controlan el avance a través del ciclo celular y tienen papeles esenciales en la proliferación celular. Véase Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002). Los ejemplos de CDKs incluyen, pero no se limitan a, cinasa dependiente de ciclina 2 (CDK2), cinasa dependiente de ciclina 7 (CDK7), cinasa dependiente de ciclina 6 (CDK6) y proteína de control de división celular 2 (CDC2). CDKs han estado implicadas en la regulación de transiciones entre diferentes fases del ciclo celular, tal

como el avance de una etapa quiescente en G<sub>1</sub> (la brecha entre mitosis y la aparición de la replicación de ADN para una nueva ronda de división celular) a S (el período de síntesis activa de ADN), o el avance de la fase G<sub>1</sub> a M, en la que se produce la mitosis activa y división celular. Véase por ejemplo, los artículos compilados en *Science*, volumen 274 (1996), páginas 1643-1677; y *Ann. Rev. Cell Dev Biol.*, volumen 13 (1997), páginas 261-291. Los complejos de CDK se forman a través de la asociación de una subunidad de ciclina reguladora (por ejemplo, ciclina A, B1, B2, D1, D2, D3, y E) y una subunidad cinasa catalítica (por ejemplo, cdc2 (CDK1), CDK2, CDK4, CDK5, y CDK6). Como lo implica el nombre, las CDKs muestran una dependencia absoluta en la subunidad ciclina para fosforilar sus sustratos diana, y diferentes pares de cinasa/ciclina funcionan para regular el avance a través de porciones específicas del ciclo celular. Las CDKs han estado implicadas en diversos estados de enfermedad, incluyendo pero sin limitarse a, aquellos que muestran el fenotipo de cáncer, diversos trastornos neoplásico y en trastornos neurológicos. Hunter, *Cell* 100:113-127 (2000).

Las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAP) participan en la transducción de señales al núcleo de la célula en respuesta a estímulos extracelulares. Los ejemplos de cinasas MAP incluyen, pero no se limitan a, proteína cinasa activada por mitógenos 3 (MAPK3), proteína cinasa activada por mitógenos 1 (ERK2), proteína cinasa activada por mitógenos 7 (MAPK7), proteína cinasa activada por mitógenos 8 (JNK1), proteína cinasa activada por mitógenos 14 (p38 alfa), proteína cinasa activada por mitógenos 10 (MAPK10), proteína cinasa JNK3 alfa, proteína cinasa JNK2 activada por estrés y proteína cinasa activada por mitógenos 14 (MAPK14). Las cinasas MAP son una familia de serina/treonina cinasas dirigida por prolinas que median la transducción de señal de receptores extracelulares o shock de salud, o radiación UV. Véase Sridhar et al., *Pharmaceutical Research*, 17:11 1345-1353 (2000). Las cinasas MAP se activan a través de la fosforilación de teonina y tirosina mediante proteínas cinasas de especificidad dual, incluyendo tirosinas cinasas tal como factores de crecimiento. La proliferación y diferenciación celular ha demostrado estar bajo el control regulador de múltiples cascadas de cinasas MAP. Véase Sridhar et al., *Pharmaceutical Research*, 17:11 1345-1353 (2000). Como tal, la vía de cinasa MAP juega papeles críticos en un número de estados de enfermedad. Por ejemplo, defectos en actividades de las cinasas MAP han demostrado llevar a proliferación celular anormal y carcinogénesis. Véase Hu et al., *Crecimiento celular Differ.* 11:191-200 (2000); y Das et al, *Breast Cancer Res. Treat.* 40:141 (1996). Además, la actividad de las cinasas MAP también ha estado implicada en la diabetes de tipo 2 asociada a la resistencia a la insulina. Véase Virkamaki et al., *J. Clin. Invest.* 103:931-943 (1999).

Las cinasas S6 ribosomales p90 (Rsk) son serinas/treoninas cinasas. Los miembros de la familia Rsk funcionan en el crecimiento y proliferación celular activados por mitógenos, diferenciación, y supervivencia celular. Los ejemplos de miembros de la familia Rsk de cinasas incluyen, pero no se limitan a, proteína cinasa S6 ribosomal, 90kDa, polipéptido 2 (Rsk3), proteína cinasa S6 ribosomal, 90kDa, polipéptido 6 (Rsk4), proteína cinasa S6 ribosomal, 90kDa, polipéptido 3 (Rsk2) y proteína cinasa S6 ribosomal, 90kDa, polipéptido 1 (Rsk1/p90Rsk). Los miembros de la familia Rsk son activados por cinasas 1/2 relacionadas con la señal extracelular y proteína cinasa 1 dependiente de la fosfoinositida. Frodin y Gammeltoft, *Mol. Cell. Endocrinol.* 151:65-77 (1999). En condiciones basales, las cinasas RSK están localizadas en el citoplasma de células y con la estimulación por mitógenos, la RSK activada (fosforilada por la cinasa relacionada extracelular) temporalmente se desplaza a la membrana plasmática donde se vuelve completamente activada. la RSK completamente activada fosforila los sustratos que están involucrado en el crecimiento celular, proliferación, diferenciación, y supervivencia celular. Richards et al., *Curr. Biol.* 9:810-820 (1999); Richards et al., *Mol. Cell. Biol.* 21:7470-7480 (2001). Las vías de señalización de RSK también han estado asociadas a la modulación del ciclo celular. Gross et al., *J. Biol. Chem.* 276(49): 46099-46103 (2001). Los datos actuales sugieren que las pequeñas moléculas que inhiben Rsk pueden ser agentes terapéuticos útiles para la prevención y tratamiento de cáncer y enfermedades inflamatorias.

Los miembros de la familia de proteínas cinasas reguladoras del ciclo celular son serinas/treoninas cinasas que juegan un papel importante en el avance del ciclo celular. Los ejemplos de miembros de la familia reguladora del ciclo celular incluyen, pero no se limitan a, CHK1 y CHK2. Los reguladores del ciclo celular son sistemas de control que coordinan el progreso del ciclo celular influenciando la formación, activación y posterior inactivación de las cinasas dependientes de ciclinas. Los reguladores del ciclo celular evitan el avance del ciclo celular en momentos inapropiados, mantienen el equilibrio metabólico de células mientras que la célula es detenida, y en algunos casos puede inducir apoptosis (muerte celular programada) cuando los requerimientos del regulador del ciclo celular no se han cumplido. Véase por ejemplo, O'Connor, *Cancer Surveys*, 29: 151-182 (1997); Nurse, *Cell*, 91: 865-867 (1997); Hartwell et al, *Science*, 266: 1821-1828 (1994); Hartwell et al., *Science*, 246: 629-634 (1989). Los miembros de la familia reguladora del ciclo celular de cinasas han estado implicados en los trastornos proliferativos celulares, fenotipos de cáncer y otras enfermedades relacionadas con el daño y reparación del ADN. Kohn, *Mol. Biol. Cell* 10:2703-2734 (1999); Ohi and Gould, *Curr. Opin. Cell Biol.* 11:267-273 (1999); Peng, et al., *Science* 277:1501-1505 (1997).

Las cinasas aurora son una familia de serinas-treoninas cinasas mitóticas multigénicas que funcionan como una clase de nuevos oncogenes. Estas cinasas comprenden los miembros aurora-A y aurora-B. Las cinasas aurora están hiperactivadas y/o sobreexpresadas en diversos tumores sólidos incluyendo pero sin limitarse a, cánceres de mama, ovario, próstata, páncreas, y colorrectal. En particular aurora-A es una cinasa centrosomal que juega un importante papel en el avance del ciclo celular y proliferación celular. Aurora-A está ubicada en la región cromosómica 20q13 que frecuentemente está amplificada en diversos tipos de tumores malignos tal como cánceres colorrectal, de mama y vejiga. También existe una correlación alta entre aurora-A y aneuploidía de pronóstico

histológico de alto grado, convirtiendo a la cinasa en un vehículo de pronóstico potencial. La inhibición de la actividad de aurora cinasa ayudaría a reducir la proliferación celular, crecimiento tumoral y potencialmente la tumorigénesis. Una descripción detallada de la función de aurora cinasa es revisada en *Oncogene* 21:6175.6183 (2002).

5 Se piensa que las proteínas serinas/treoninas cinasas que contienen súper hélice asociadas a Rho ROCK-1 and ROCK-II juegan un papel principal en la dinámica citoesquelética sirviendo como efectores corriente abajo de la familia Rho/Rac de GTPasas pequeñas activada por el factor de crecimiento y citocina. ROCKS fosforilan diversos sustratos, incluyendo, pero sin limitarse a, fosfatasa de cadena liviana de miosina, cadena liviana de miosina, proteínas ezrin-radixin-moesina y cinasas LIM (para Lin11, Isl1 y Mec3). ROCKs también media la formación de  
10 fibras de estrés de actina y adhesiones focales en diversos tipos de células. ROCKs tienen un papel importante en la migración celular mejorando la contractilidad celular, se requieren para la retracción de la cola de monocitos y células, y se ha utilizado un inhibidor de ROCK para reducir la diseminación de células tumorales in vivo. Experimentos recientes han definido nuevas funciones de ROCKS en células, incluyendo posicionamiento centrosomal y regulación del tamaño celular, que podría contribuir con diversos estados patológicos y fisiológicos. Véase *Nature Reviews Mot. Cell Biol.* 4, 446-456 (2003). Los miembros de la familia ROCK son dianas de  
15 intervención atractivas para una variedad de patologías, incluyendo cáncer y enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, los inhibidores de la cinasa Rho pueden ser agentes terapéuticos útiles para hipertensión, angina de pecho, y asma. Además, se espera que Rho juegue un papel en los trastornos de circulación periférica, arteriosclerosis, inflamación, y enfermedad autoinmune y como tal, es una diana útil para la terapia.

20 La cinasa S6 ribosomal 70 kDa (p70S6K) es activada por numerosos mitógenos, factores de crecimiento y hormonas. La activación de p70S6K se produce a través de la fosforilación en un número de sitios y la diana primaria de la cinasa activada es la proteína ribosomal S6 40S, un componente principal de la maquinaria involucrada en la síntesis de proteínas en células de mamíferos. Además de su participación en la regulación de la traducción, la activación de p70S6K ha estado implicada en el control del ciclo celular, diferenciación de células  
25 neuronales, regulación de la motilidad celular y una respuesta celular que es importante en la metástasis tumoral, inmunidad y reparación de tejido. La modulación de la actividad de la cinasa p70S6 puede tener implicancias terapéuticas en trastornos tal como cáncer, inflamación, y diversas neuropatías. Puede encontrarse un debate detallado de las cinasas p70S6K en *Prog. Cell cycle Res.* 1;21-32 (1995), and *Immunol Cell Biol.* 78(4)-447-51 (2000).

30 El glicógeno sintasa cinasa 3 (GSK-3) es una serina/treonina cinasa constitutivamente activa expresada en forma ubicua que fosforila los sustratos celulares y de ese modo regula una amplia variedad de funciones celulares, incluyendo el desarrollo, metabolismo, transcripción génica, traducción de proteínas, organización citoesquelética, regulación del ciclo celular, y apoptosis. GSK-3 se describió inicialmente como una enzima clave involucrada en el metabolismo del glicógeno, por ahora se sabe que regula un abanico diverso de funciones celulares. Dos formas de  
35 la enzima, GSK-3 $\alpha$  y GSK-3 $\beta$ , se han identificado previamente. La actividad de GSK-3 $\beta$  es regulada en forma negativa por la proteína cinasa B/Akt y por la vía de señalización Wnt. Los inhibidores de pequeñas moléculas de GSK-3 por ello pueden tener varios usos terapéuticos, incluyendo el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, diabetes tipo II, trastornos bipolares, apoplejía, cáncer, y enfermedad inflamatoria crónica. Revisado en el papel del glicógeno sintasa cinasa-3 en cáncer: regulación por Wnts y otra vías de señalización (*Adv Cáncer Res.*;84:203-29, 2002); los inhibidores del glicógeno sintasa cinasa 3 (GSK-3) como nuevos fármacos prometedores para diabetes, neurodegeneración, cáncer, e inflamación (*Med Res Rev.*; 22(4):373-84, 2002); papel del glicógeno sintasa cinasa-3 en la vía de supervivencia celular fosfatidilinositol 3-Cinasa/Akt (*J, Biol Chem.*, 273(32):19929-32, 1998).

45 Debido a que las proteínas cinasas regulan casi todo proceso celular, incluyendo metabolismo, proliferación celular, diferenciación celular, y supervivencia celular, las mismas son dianas atractivas para la intervención terapéutica para diversos estados de enfermedad. Por ejemplo, el control del ciclo celular y angiogénesis, en la que las proteínas cinasas juegan un papel de giro son procesos celulares asociados a numerosas afecciones de enfermedad tal como pero sin limitarse a cáncer, enfermedades inflamatorias, angiogénesis anormal y enfermedades relacionadas con la misma, aterosclerosis, degeneración macular, diabetes, obesidad, y dolor.

50 Las proteínas cinasas se han vuelto diana atractivas para el tratamiento de cánceres. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002). Se ha propuesto que la participación de las proteínas cinasas en el desarrollo de malignidades humanas puede producirse por: (1) redistribuciones genómicas (por ejemplo, BCR-ABL en leucemia mielógena crónica), (2) imitaciones que llevan a la actividad de la cinasa constitutivamente activa, tal como leucemia mielógena aguda y tumores gastrointestinales, (3) desregulación de la actividad cinasa por la activación de  
55 oncogenes o pérdida de funciones supresoras de tumores, tal como en cánceres con RAS oncogénico, (4) desregulación de la actividad cinasa por la sobreexpresión, como en el caso de EGFR y (5) expresión ectópica de factores de crecimiento que pueden contribuir con el desarrollo y mantenimiento del fenotipo neoplásico. Fabbro et al, *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002).

60 Ciertos cánceres están asociados a angiogénesis. La angiogénesis es el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos capilares de la vasculatura pre-existente. Risau, W., *Nature* 386:671.674 (1997). Se ha demostrado que las proteínas cinasas pueden contribuir con el desarrollo y mantenimiento del fenotipo neoplásico. Fabbro et al.,

Pharmacology & Therapeutics 93:79-98 (2002), Por ejemplo, VEGF A-D y sus cuatro receptores han estado implicados en los fenotipos que incluyen neovascularización y permeabilidad vascular mejorada, tal como angiogénesis tumoral y linfangiogénesis. Matter, A., Drug Discov. Today 6:1005-1023 (2001).

5 La enfermedad cardiovascular ("CVD") representa casi un cuarto de las muertes anuales totales en todo el mundo. Los trastornos vasculares tal como aterosclerosis y restenosis resultan del crecimiento desregulado de paredes de vasos y la restricción del flujo sanguíneo a órganos vitales. Diversas vías de cinasas, por ejemplo JNK, son activadas por estímulos aterogénicos y reguladas a través de la producción del factor de crecimiento y citocina local en las células vasculares. Yang et al, Immunity 9:575 (1998). La isquemia e isquemia acoplada a la reperusión en el corazón, riñón y cerebro resulta en muerte celular y formación de cicatrices, que finalmente pueden llevar a la falla cardíaca congestiva, falla renal o disfunción cerebral. En el trasplante de órganos, la reperusión de órganos dadores previamente isquémicos resulta en lesión aguda de tejido mediada por leucocitos y retraso de la función del injerto. Las vías de isquemia y reperusión están mediadas por diversas cinasas. Por ejemplo, la vía JNK ha estado ligada al daño de tejido mediado por leucocitos. Li et al., Mol. Cell. Biol. 16:5947-5954 (1996), Finalmente, la apoptosis potenciada en tejidos cardíacos también ha estado ligada a la actividad de cinasas. Pombo et al., J. Biol. Chem. 269:26546-26551 (1994).

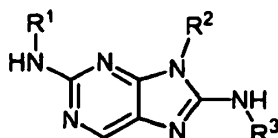
La aclaración de la intrincación de las vías de las proteínas cinasas y la complejidad de la relación e interacción entre las diversas proteínas cinasas y vías de cinasas enfatiza la importancia de desarrollar agentes farmacéuticos capaces de actuar como moduladores de las proteínas cinasas, reguladores o inhibidores que tengan actividad beneficiosa en múltiples cinasas o múltiples vías de cinasas.

20 Por ello se ha sugerido que debido a la complejidad de las cascadas celulares de intraseñalización de las vías de proteínas cinasas, pueden requerirse agentes que afecten múltiples vías en forma simultánea para la actividad clínica significativa. En efecto, se sabe que algunos fármacos de cinasa, tal como Gleevec<sup>®</sup>, se dirigen a varias cinasas enseguida. Gleevec<sup>®</sup> básicamente se dirige a una proteína de fusión mutante que contiene la cinasa abl, que es creada por un evento de desplazamiento cromosómico 9:22; Gleevec<sup>®</sup> también se dirige a c-kit, una tirosina cinasa implicada en los tumores estromales gastrointestinales (GIST). Sin embargo, en ensayos clínicos recientes, los pacientes han desarrollado resistencia a Gleevec<sup>®</sup> o han demostrado respuesta incompleta al tratamiento.

Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad de nuevos moduladores de cinasas.

La citación o identificación de cualquier referencia en la presente memoria no debe interpretarse como una admisión de que la referencia es técnica anterior a la presente solicitud.

30 En la presente memoria se divulgan compuestos que tienen la siguiente fórmula (I):



(I)

y sales aceptables para uso farmacéutico de los mismos, en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son tal como se define en la presente memoria.

35 Un compuesto de fórmula (I) o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo (siendo referido cada uno en la presente memoria como un "Compuesto de Aminopurina") es útil para el tratamiento o prevención de ciertas enfermedades tal como se describe en la presente memoria. La presente invención se refiere al Compuesto de Aminopurina para su uso en el tratamiento o prevención de resistencia a la insulina, diabetes de Tipo I de aparición lenta, diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, diabetes de aparición en la edad madura, diabetes juvenil, diabetes dependiente de la insulina, diabetes no dependiente de la insulina, diabetes relacionada con la desnutrición, diabetes propensa a la cetosis, pre-diabetes, diabetes relacionada con fibrosis cística, diabetes resistente a la cetosis, fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis hepática, esteatofibrosis o esteatohepatitis.

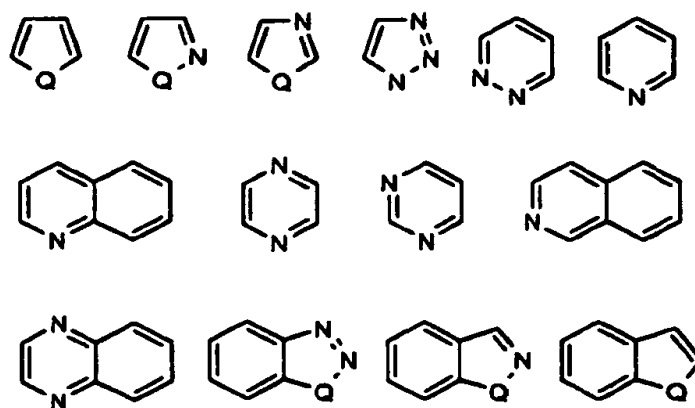
40 Además en la presente memoria se divulgan composiciones que comprenden una cantidad efectiva de un Compuesto de Aminopurina y composiciones que comprenden una cantidad efectiva de un Compuesto de Aminopurina and un soporte o vehículo aceptable para uso farmacéutico. Las composiciones son útiles para el tratamiento o prevención de ciertas enfermedades tal como se describe en la presente memoria.

45 El Compuesto de Aminopurina puede dirigirse a dos o más de las siguientes: cinasas de la familia src cinasa, cinasas de la familia Rsk cinasa, cinasas de la familia CDK, cinasas de la familia MAPK cinasa, y tirosinas cinasas tal como Fes, Lyn, and Syk cinasas. El agente puede dirigirse a dos o más cinasas de la misma familia, o puede dirigirse a cinasas que representan dos o más familias o clases de cinasas.

Las presentes realizaciones pueden entenderse más completamente por referencia a la descripción detallada y ejemplos, que tienen como objeto ejemplificar realizaciones no restrictivas.

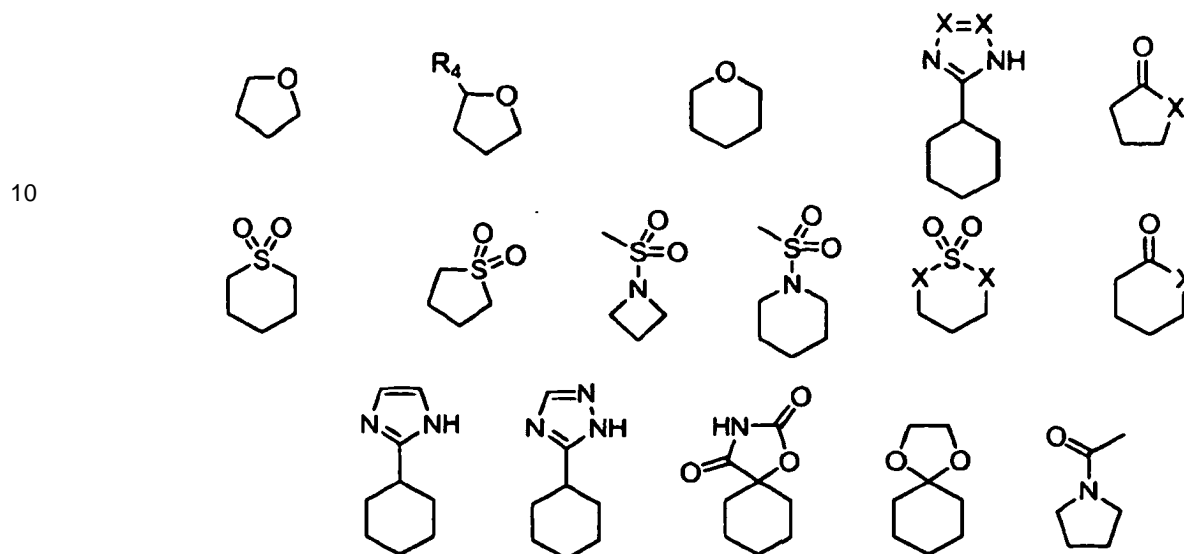
### Definiciones

- 5 Un grupo "alquilo C<sub>1-6</sub>" es un hidrocarburo no cíclico ramificado o de cadena lineal saturado que tiene de 1 a 5 átomos de carbono. Los alquilos C<sub>1-6</sub> representativos incluyen -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo y -n-hexilo; mientras que los alquilos ramificados saturados incluyen -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -sec-butilo, -isopentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 2,3-dimetilbutilo y similares. Un grupo -(alquilo C<sub>1-6</sub>) puede estar sustituido o no sustituido,
- 10 Un grupo "alcoxi" es un grupo -O-(alquilo C<sub>1-6</sub>), en el que alquilo C<sub>1-6</sub> se define más arriba, incluyendo -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>, y similares.
- Un grupo "alcoxilquilo" es un grupo -(alquilenos C<sub>1-6</sub>)-O-(alquilo C<sub>1-6</sub>), en la que cada alquilo C<sub>1-6</sub> es independientemente un grupo un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> definido más arriba, incluyendo -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, y similares.
- 15 Un grupo "alquilamino" es un grupo mono-alquilamino o di-alquilamino, tal como -NH(alquilo C<sub>1-6</sub>), -N(alquil C<sub>1-6</sub>)(alquilo C<sub>1-6</sub>), -NH(cicloalquilo C<sub>3-10</sub>), -N(cicloalquil C<sub>3-10</sub>)(cicloalquilo C<sub>3-10</sub>) o -N(alquil C<sub>1-6</sub>)(cicloalquilo C<sub>3-10</sub>) en el que cada alquilo C<sub>1-6</sub> y cicloalquilo C<sub>3-10</sub> es independientemente tal como se define en la presente memoria, incluyendo, pero sin limitarse a, -NHCH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -N((CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y -N(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).
- 20 Un grupo "aminocarbonilo" es un grupo -C(O)NR<sub>2</sub>, en el que cada R es independientemente hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> definido más arriba, en el que cada grupo alquilo C<sub>1-6</sub> puede estar opcionalmente sustituido.
- Un grupo "aminoalquilo" es un grupo -C(O)NR<sub>2</sub>, en el que cada R es independientemente hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> definido más arriba, en el que cada grupo alquilo C<sub>1-6</sub> puede estar opcionalmente sustituido
- 25 Un grupo "acilamino" es un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno o más grupos NR<sub>2</sub>, en el que R es hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> definido más arriba, en el que cada grupo alquilo C<sub>1-6</sub> puede estar además opcionalmente sustituido.
- Un grupo "alcanosulfonilamino" es un grupo -NR-SO<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>, en el que R es hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> definido más arriba, en el que cada grupo alquilo C<sub>1-6</sub> puede estar opcionalmente sustituido,
- 30 Un grupo "cicloalquilo C<sub>3-10</sub>" es un grupo alquilo cíclico de 3 a 10 átomos de carbono que tiene un anillo cíclico simple o múltiples anillos con puente o condensados que pueden estar opcionalmente sustituido con de 1 a 3 grupos alquilo. Dichos grupos cicloalquilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras anulares simples tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 1-metilciclopropilo, 2-metilciclopentilo, 2-metilciclooctilo, y similares, o estructuras anulares con puente o múltiples tal como adamantanilo y similares. Un grupo -(cicloalquilo C<sub>3-10</sub>) puede estar sustituido o no sustituido. Dichos grupos cicloalquilo sustituidos incluyen, a modo de ejemplo, ciclohexanona y similares.
- 35 Un "carboxilo" o "carboxi" es un grupo -COOH.
- Un "halógeno" es flúor, cloro, bromo o yodo.
- Un grupo "arilo" es un grupo carbocíclico aromático insaturado de 6 a 14 átomos de carbono que tiene un anillo simple (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo o antrilo). Los arilos particulares incluyen fenilo, bifenilo, naftilo y similares. Un grupo arilo puede estar sustituido o no sustituido.
- 40 Un grupo "heteroarilo C<sub>3-10</sub>" es un sistema anular arilo que tiene uno a cuatro heteroátomos como átomos anulares en un sistema anular heteroaromático, en el que el resto de los átomos son átomos de carbono. Los heteroátomos apropiados incluyen oxígeno, azufre y nitrógeno. En ciertas realizaciones, el sistema anular heterocíclico es monocíclico o bicíclico. Los ejemplos no restrictivos incluyen los siguientes:



en los que Q es CH<sub>2</sub>, CCH<sub>2</sub>, O, S o NH. Un grupo -(heteroarilo C<sub>3-10</sub>) puede estar sustituido o no sustituido.

5 Un "heterociclo C<sub>3-10</sub>" es un cicloalquilo aromático o no aromático que tiene de 3 a 10 átomos anulares en los que uno a cuatro de los átomos de carbono anulares son independientemente reemplazados con un heteroátomo del grupo que consiste en O, S y N. Los ejemplos representativos de un heterociclo incluyen, pero no se limitan a, azetidina, benzofuranilo, benzotiofeno, indolilo, benzopirazolilo, coumarinilo, isoquinolinilo, morfolinilo, pirrolilo, pirrolidinilo, tiofenilo, furanilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, quinolinilo, pirimidinilo, piridinilo, piridonilo, pirazinilo, piridazinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, (1,4)-dioxano, (1,3)-dioxolano, 4,5-dihidro-1 H-imidazolilo, tetrahidropirano, tetrahidrofurano y tetrazolilo. Los ejemplos no restrictivos adicionales incluyen los siguientes:



incluyendo estereoisómeros y enantiómeros de los mismos,

15 en los que cada aparición de X es independientemente CH<sub>2</sub>, O, S o N y R<sub>4</sub> es H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido. Un grupo -(heteroarilo C<sub>3-10</sub>) puede estar sustituido o no sustituido. Un grupo -(heterociclo C<sub>3-10</sub>) puede estar sustituido o no sustituido.

Un grupo "heterociclocarbonilo" es un grupo -C(O)- heterociclo C<sub>3-10</sub>, en el que heterociclo C<sub>3-10</sub> es tal como se describe en la presente memoria, en el que el grupo heterociclo C<sub>3-10</sub> puede estar opcionalmente sustituido,

Un grupo "hidroxialquilo" es un grupo alquilo tal como se define más arriba sustituido con uno o más grupos hidroxilo,

20 En una realización, cuando los grupos descritos en la presente memoria se dice que están "sustituidos," pueden estar sustituidos con cualquier sustituyente o sustituyentes que no afectan en forma adversa la actividad del Compuesto de Aminopurina. Los ejemplos de sustituyentes son aquellos encontrados en los compuestos y realizaciones ejemplares divulgados en la presente memoria, así como halógeno (cloro, yodo, bromo, o flúor); alquilo C<sub>1-6</sub>; alqueno C<sub>2-6</sub>; alquino C<sub>2-6</sub>; hidroxilo; alcoxilo C<sub>1-6</sub>; amino; nitro; tiol; tioeter; imina; ciano; amido; fosfonato; fosfina; carboxilo; tiocarbonilo; sulfonilo; sulfonamida; cetona; aldehído; éster; oxígeno (=O); haloalquilo (por ejemplo, trifluorometilo); B(OH)<sub>2</sub>, cicloalquilo carbocíclico, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado  
25 (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo), o un heterocicloalquilo, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, o tiazinilo);

5 carbocíclico o heterocíclico, arilo monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, fenilo, naftilo, pirrolilo, indolilo, furanilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiaxolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, piridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, acridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, benzotiofenilo, o benzofuranilo); amino (primario, secundario, o terciario); alquilo O-inferior; O-arilo, arilo; alquilo aril-inferior;  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ;  $\text{CONH}_2$ ;  $\text{OCH}_2\text{CONH}_2$ ;  $\text{NH}_2$ ;  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ;  $\text{OCHF}_2$ ;  $\text{CF}_3$ ;  $\text{OCF}_3$ .

"JNK" significa una proteína o una isoforma de la misma expresada mediante un gen JNK1, JNK2, o JNK3 (Gupta, S., Barrett, T., Whitmarsh, A.J., Cavanagh, J., Sluss, H.K., Derijard, B. and Davis, R.J. The EMBO J. 15:2760-2770 (1996)).

10 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "sal/es aceptable/s para uso farmacéutico" se refiere a una sal preparada a partir de un ácido o base no tóxica aceptable para uso farmacéutico incluyendo una base y ácido inorgánico y una base y ácido orgánico. La sales de adición básicas aceptables para uso farmacéutico apropiadas de los Compuestos de Aminopurina incluyen, pero no se limitan a sales metálicas hechas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas hechas a partir de lisina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiana, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los ácido no tóxicos apropiados incluyen, pero no se limitan a, ácidos inorgánicos y orgánicos tal como ácidos acético, algínico, antranílico, bencenosulfónico, benzoico, camforsulfónico, cítrico, etensulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, hidrobromico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, musico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico, y p-toluensulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, hidrobromico, fosfórico, sulfúrico, y metanosulfónico. Los ejemplos de sales específicas de ese modo incluyen sales clorhídricas y de mesilato. Otros son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, Remington 's Pharmaceurtcal Sciences, 18<sup>o</sup> edición, Mack Publishing, Easton PA (1990) o Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>o</sup> edición., Mack Publishing, Easton PA (1995).

25 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "polimorfo/s" y términos relacionados en la presente memoria se refieren a forma sólidas de los Compuestos de Aminopurina que tienen diferentes propiedades físicas como resultado del orden de las molécula en la matriz de cristal. Las diferencias en las propiedades físicas exhibidas por las formas sólidas afectan los parámetros farmacéuticos tal como estabilidad en almacenamiento, compresibilidad y densidad (importantes en la formulación y fabricación del producto), e índices de disolución (un importante factor en la determinación de la biodisponibilidad). Las diferencias en la estabilidad pueden dar como resultado cambio en la reactividad química (por ejemplo, oxidación diferencial, tal que una forma de dosificación se decolora más rápidamente cuando está comprendida por una forma sólida que cuando está comprendida por otra forma sólida) o cambios mecánicos (por ejemplo, quebramiento de comprimidos en almacenamiento ya que un polimorfo cinéticamente favorecido se convierte en una forma sólida termodinámicamente más estable) o ambos (por ejemplo, comprimidos de una forma sólida son más susceptibles a la descomposición en alta humedad). Como resultado de la diferencias de solubilidad/disolución, en el caso extremo, alguna transiciones de forma sólida pueden dar como resultado carencia de potencia o, en el otro extremo, toxicidad. Además, las propiedades físicas del cristal pueden ser importantes en el procesamiento, por ejemplo, una forma sólida podría ser más propensa a formar solvatos podría ser más difícil de filtrar y lavar libre de impurezas (es decir, la forma de partículas y distribución del tamaño podría ser diferente entre una forma sólida respecto de la otra)

40 Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "clatrato" significa un Compuesto de Aminopurina, o una sal del mismo, en la forma de una matriz de cristal que contiene espacios (por ejemplo, canales) que tienen una molécula huésped (por ejemplo, un disolvente o agua) atrapada dentro o una matriz de cristal en la que un Compuesto de Aminopurina es una molécula huésped.

45 Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "hidrato" significa un Compuesto de Aminopurina, o una sal del mismo, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes.

Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "solvato" significa un Compuesto de Aminopurina, o una sal del mismo, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes.

50 Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "profármaco" significa un derivado del Compuesto de Aminopurina que puede hidrolizarse, oxidarse, o de otra manera reaccionar en condiciones biológicas (in vitro o in vivo) para proporcionar un compuesto activo, particularmente un Compuesto de Aminopurina. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados y metabolitos de un Compuesto de Aminopurina que incluyen restos biohidrolizables tal como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbomatos biohidrolizables, carbomatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables, y análogos de fosfato biohidrolizables. En ciertas realizaciones, los profármacos de compuestos con grupos funcionales carboxilo son los ésteres de alquilo inferior del ácido carboxílico. Los ésteres de carboxilato se forman convenientemente esterificando cualquiera de los restos de ácido carboxílico presentes en la molécula. Los profármacos pueden prepararse típicamente utilizando procedimientos bien conocidos, tal como aquellos descritos por Burger 's Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6<sup>o</sup> edición (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) y Design and Application of Prodrugs (H.



Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmfh).

Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "estereoisómero" o "estereoméricamente puro" significa un estereoisómero de un Compuesto de Aminopurina que está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, un compuesto estereoméricamente puro que tiene un centro quiral estará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro que tiene dos centros quirales estará sustancialmente libre de los otros diaestereómeros del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro típico comprende más que aproximadamente 80% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos que aproximadamente 20% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más que aproximadamente 90% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos que aproximadamente 10% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más que aproximadamente 95% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos que aproximadamente 5% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, o más que aproximadamente 97% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos que aproximadamente 3% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto. Los Compuestos de Aminopurina pueden tener centros quirales y pueden aparecer como racematos, enantiómeros o diastereómeros individuales, y mezclas de los mismos. Todas dichas formas isoméricas están incluidas dentro de las realizaciones divulgadas en la presente memoria, incluyendo mezclas de las mismas

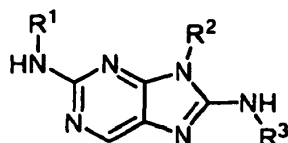
Diversos Compuestos de Aminopurina contienen uno o más centros quirales, y pueden existir como mezclas racémicas de enantiómeros, mezclas de diastereómeros o compuestos enantioméricamente u ópticamente puros. El uso de formas estereoméricamente puras de dichos Compuestos de Aminopurina, así como el uso de mezclas de aquellas formas están contemplados por las realizaciones divulgadas en la presente memoria. Por ejemplo, las mezclas que comprenden cantidades iguales o desiguales de los enantiómeros de un Compuesto de Aminopurina particular pueden utilizarse en los procedimientos y composiciones divulgadas en la presente memoria. Estos isómeros pueden sintetizarse o resolverse asimétricamente utilizando técnicas estándar tal como columna quirales o agentes de resolución quiral. Véase, por ejemplo, Jacques, J., et al, Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, New York, 198)); Wilen, S. H., et al, Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wiley, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions página 268 (EL. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

También debe indicarse que los Compuestos de Aminopurina incluyen isómeros E y Z, o una mezcla de los mismos, e isómeros cis y trans o una mezcla de los mismos. En ciertas realizaciones, los Compuestos de Aminopurina se aíslan como isómero E o Z. En otras realizaciones, los Compuestos de Aminopurina son una mezcla de los isómeros E y Z.

El término "paciente" incluye un animal, incluyendo, pero sin limitarse a, un animal tal como vaca, mono, caballo, oveja, cerdo, pollo, pavo, codorniz, gato, perro, ratón, rata, conejo o conejillo de Indias, en una realización un mamífero, en otra realización un ser humano.

### 35 **Compuestos de aminopurina**

En la presente memoria se divulgan Compuestos de Aminopurina que tienen la siguiente fórmula (I):



(I)

y sales aceptables para uso farmacéutico, polimorfos, clatratos, solvatos, hidratos, estereoisómeros, enantiómeros y profármacos de los mismos,

40 en la que:

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido;

R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido y

45 R<sup>3</sup> es arilo sustituido con uno o más halógenos o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más halógenos, en el que el grupo arilo o heteroarilo C<sub>3-10</sub> además está opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo.

- En una realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido, en una realización fenilo sustituido con alcoxi, en una realización fenilo sustituido con p-alcoxi, y en una realización fenilo sustituido con p-metoxi.
- 5 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con m-alcoxi, en una realización fenilo sustituido con m-metoxi.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con trifluorometilo, en una realización fenilo sustituido con p-trifluorometilo.
- 10 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, en una realización isopropilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con p-halo, en una realización fenilo sustituido con p-fluoro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con p-alquilo C<sub>1-6</sub>, en una realización fenilo sustituido con p-metilo.
- 15 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con o-halo, en una realización fenilo sustituido con o-fluoro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con m,p-dihalo, en una realización fenilo sustituido con m,p-dicloro.
- 20 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con m-ciano.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con p-heterociclo C<sub>3-10</sub>, en una realización fenilo sustituido con p-morfolino.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es fenilo sustituido con p-sulfonilo.
- 25 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es heteroarilo C<sub>3-10</sub>, en una realización piridina o piridinona.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es heterociclo C<sub>3-10</sub>, en una realización piperidina, piperidin-2-ona, pirrolidinona o tetrahidropirano.
- 30 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es piperidina N-sustituida, en una realización piperidina sustituida con N-sulfonilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (1) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, en una realización ciclohexilo, ciclopentilo o ciclopropilo.
- 35 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es sustituido cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, en una realización cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más grupos alquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, heterociclocarbonilo, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo.
- 40 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido, en una realización cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más grupos alquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, aminoalquilo, amido, amidoalquilo, carboxi, heterociclocarbonilo, sulfonamida o sulfonaminoalquilo. Ciclohexilo y ciclopentilo son grupos cicloalquilo C<sub>3-10</sub> particulares.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es ciclohexilo sustituido con uno o más grupos alquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, aminoalquilo, amido, amidoalquilo, carboxi, heterociclocarbonilo, sulfonamida o sulfonaminoalquilo.
- 45 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, en una realización metilo, etilo, propilo (por ejemplo, n-propilo o isopropilo) o butilo (por ejemplo, isobutilo).
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido, en una realización fenilo, hidroxilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con oxirano.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>1</sup> es bencilo.

- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, en una realización heterociclo  $C_{3-10}$  (por ejemplo, alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con piperidina o pirrolidina).
- 5 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo  $C_{3-10}$  sustituido o no sustituido o heteroarilo  $C_{3-10}$  sustituido o no sustituido.
- 10 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es sustituido o no sustituido cicloalquilo  $C_{3-10}$ , en una realización ciclohexilo, ciclopentilo, ciclobutilo o ciclopropilo. Ciclohexilo y ciclopentilo son grupos cicloalquilo  $C_{3-10}$  específicos. En una realización, los sustituyentes de cicloalquilo  $C_{3-10}$  incluyen grupos alquilo  $C_{1-6}$ , hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, aminoalquilo, amido, amidoalquilo, carboxi, heterociclocarbonilo, sulfonamida y sulfonaminoalquilo.
- 15 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es ciclohexilo o ciclopentilo sustituido con uno o más grupos alquilo  $C_{1-6}$ , hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, heterociclocarbonilo, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo.
- 20 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es alquilo  $C_{1-6}$ , en una realización butilo (por ejemplo, n-butilo, isobutilo o t-butilo), propilo (por ejemplo, isopropilo), etilo o metilo.
- 25 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, en una realización ciano, alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con cicloalquilo  $C_{3-10}$  o hidroxilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, en una realización heterociclo  $C_{3-10}$  (por ejemplo, piperidina o pirrolidina), alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con hidroxilo o amido.
- 30 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es arilo, en una realización fenilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es heterociclo  $C_{3-10}$ , en una realización piperidina, piperidin-2-ona, tetrahidropirano, tetrahydrofurano o azetidina.
- 35 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es heterociclo  $C_{3-10}$ , en una realización un heterociclo  $C_{3-10}$  que contiene azufre, incluyendo pero sin limitarse a 4-(1,1-dioxo)tiopirranilo y 3-(1,1-dioxo)tiofuranilo. En una realización particular,  $R^2$  es un heterociclo  $C_{3-10}$  que contiene azufre, sulfonilo o sulfonamida.
- 40 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es heterociclo  $C_{3-10}$  sustituido, en una realización piperidina sustituida con acetilo.
- 45 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  es 3-oxetaniolo sustituido o no sustituido, 3-tetrahydrofurano, 4-tetrahydropirano, 4-piperidinilo, 4-(1-aci)-piperidinilo, 4-(1-alcanosulfonil)piperidinilo, 3-pirrolidinilo, 3-(1-aci)pirrolidinilo o 3-(1-alcanosulfonil)pirrolidinilo.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con o-halo, en una realización fenilo sustituido con o-fluoro o cloro.
- 50 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con p-halo, en una realización fenilo sustituido con p-fluoro o cloro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con p-halo, en una realización fenilo sustituido con p-fluoro o cloro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con m,p-dihalo, en una realización fenilo sustituido con m,p-difluoro o dicloro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con o,m-dihalo, en una realización fenilo sustituido con o,m-difluoro.
- En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con op-dihalo, en una realización fenilo sustituido con o,p-difluoro, fenilo sustituido con o-fluoro-p-bromo o fenilo sustituido con o-fluoro-p-cloro.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con o,o-dihalo, en una realización fenilo sustituido con o,o-difluoro o fenilo sustituido con o-cloro-o-fluoro.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es fenilo sustituido con 2,4,6-trihalo, en una realización fenilo sustituido con trifluoro.

- 5 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es o-halo sustituido, en una realización fenilo sustituido con o-fluoro o cloro y sustituido con m-trofluorometilo.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^3$  es heteroarilo  $C_{3-10}$  sustituido con halo, en una realización piridina sustituida con halo.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es aminoetilo.

- 10 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es un anillo heterocíclico de cinco miembros.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es un anillo heterocíclico que contiene N de cinco miembros.

- 15 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es un anillo heterocíclico que contiene O de cinco miembros.

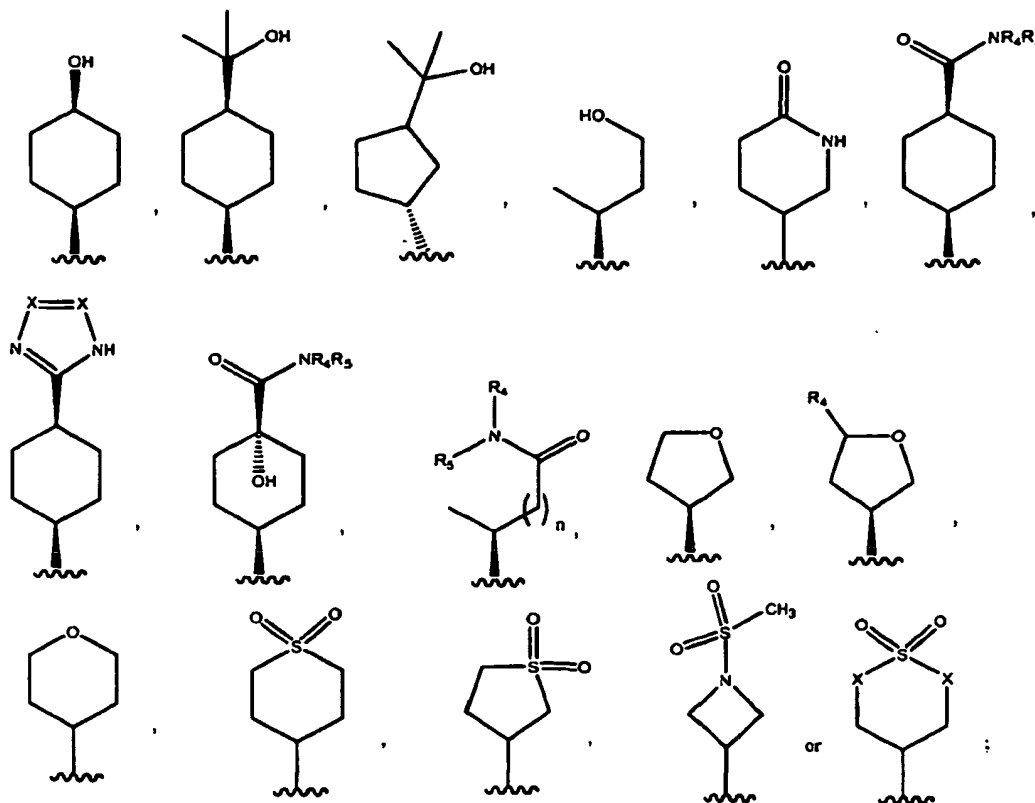
En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es 2-tetrahidrofurano.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que  $R^2$  no es 2-pirrolidinilo.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que:

- 20  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo  $C_{3-10}$  sustituido o no sustituido, heterociclo  $C_{3-10}$  sustituido o no sustituido o heteroarilo  $C_{3-10}$  sustituido o no sustituido;

$R^2$  es:



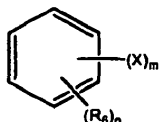
$R^3$  es arilo o heteroarilo  $C_{3-10}$ , cada uno estando sustituido con uno o más halógenos;

- 25 X es en cada aparición independientemente  $CH_2$ , O, S o N;

R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son en cada aparición independientemente H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido; o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados junto con el átomo de N al que están unidos forman un heterociclo de 5-7 miembros sustituido o no sustituido; y

5 n es en cada aparición independientemente un número entero que varía de 0 a 3.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (I) son aquellos en los que R<sup>3</sup> es:



en la que:

X es en cada aparición independientemente F, Cl, Br o I;

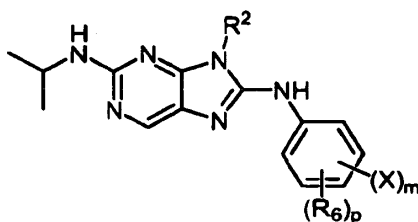
10 R<sub>6</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo;

m es un número entero que varía de 1 a 5; y

p es un número entero que varía de 0 a 4.

En otra realización, p es un número entero que varía de 1 a 4,

15 En otra realización, los Compuestos de Aminopurina son aquellos que tienen la siguiente fórmula (II):



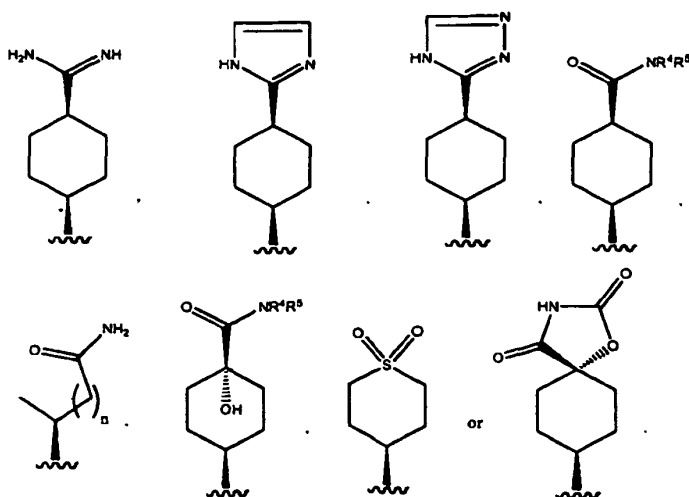
(II)

y sales aceptables para uso farmacéutico, polimorfos, clatratos, solvatos, hidratos, estereoisómeros, enantiómeros y profármacos de los mismos,

en la que:

20 X es en cada aparición independientemente F, Cl, Br o I;

R<sup>2</sup> es:



R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son en cada aparición independientemente H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido; o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados junto con el átomo de N al que están unidos forman un heterociclo de 5-7 miembros sustituido o no sustituido;

- 5 R<sub>6</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo;

m es un número entero que varía de 1 a 5;

n es en cada aparición independientemente un número entero que varía de 0 a 3; y

p es un número entero que varía de 0-4.

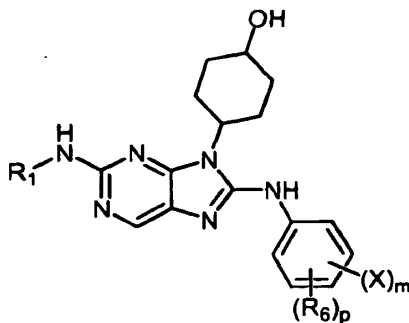
- 10 En una realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (II) son aquellos en los que X es fluoro.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (II) son aquellos en los que X es fluoro y m es 3.

En otra realización, p es O.

En otra realización, p es un número entero que varía de 1 a 4.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina son aquellos que tienen la siguiente fórmula (III);



- 15 **(III)**  
y sales aceptables para uso farmacéutico, polimorfos, clatratos, solvatos, hidratos, estereoisómeros, enantiómeros y profármacos de los mismos;

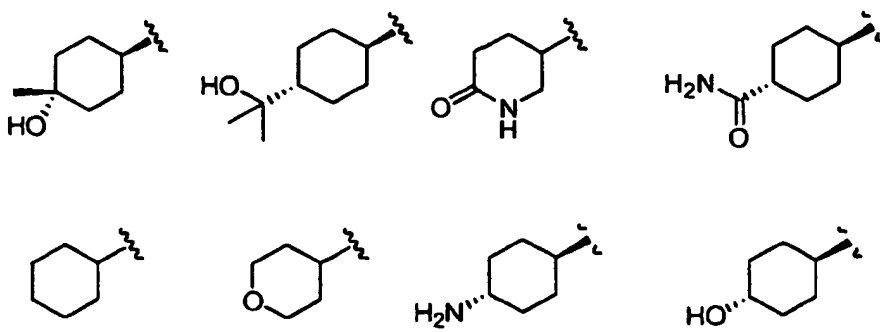
en la que:

X es en cada aparición independientemente F, Cl, Br o I;

- 20 m es un número entero que varía de 1 a 5;

p es un número entero que varía de 0-4;

R<sup>1</sup> es:



y

- 25 R<sub>6</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano,

acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo.

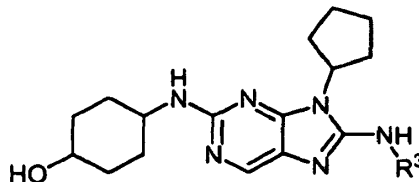
En una realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (III) son aquellos en los que X es fluoro.

En otra realización, los Compuestos de Aminopurina de fórmula (III) son aquellos en los que X es fluoro y m es 3.

En otra realización, p es O.

- 5 En otra realización, p es un número entero que varía de 1 a 4.

En una realización, los Compuestos de Aminopurina son aquellos que tienen la siguiente fórmula (IV):

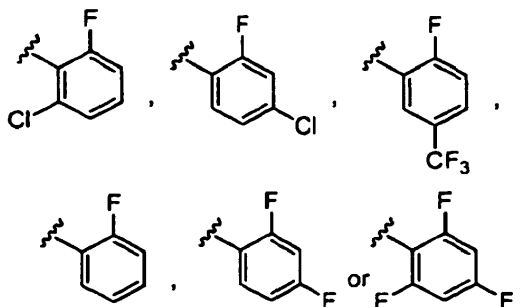


(IV)

y sales aceptables para uso farmacéutico, polimorfos, clatratos, solvatos, hidratos, estereoisómeros, enantiómeros y profármacos de los mismos,

- 10 en la que:

R<sup>3</sup> es:



Los siguientes procedimientos de HPLC se utilizaron para caracterizar los compuestos de la Tabla 1, más abajo,

Procedimiento A=5→70% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos.

- 15 Procedimiento B=20→100% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos.

Procedimiento C=5→50% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos.

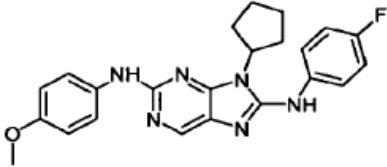
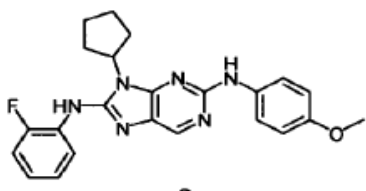
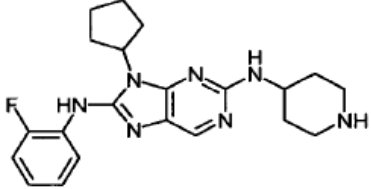
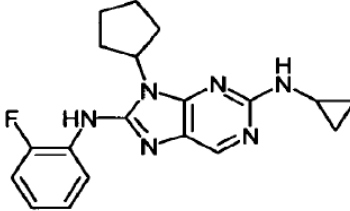
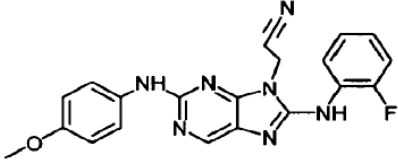
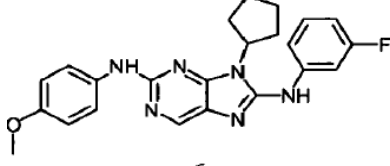
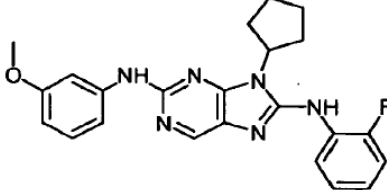
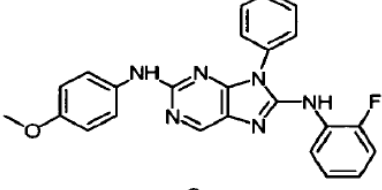
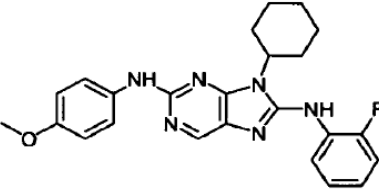
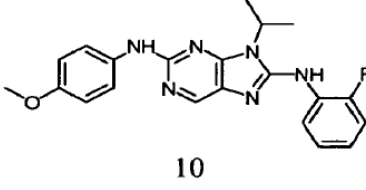
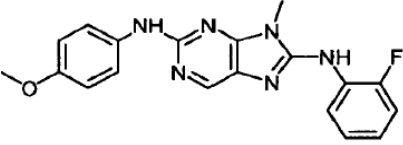
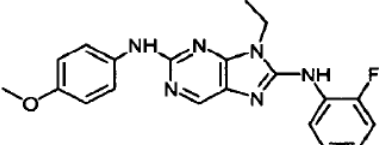
Procedimiento D=0→75% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos.

Procedimiento E:0-75% Acetonitrilo/Agua (0,1% Ácido fórmico) durante 5 minutos después mantener a 75% Acetonitrilo/Agua (0,1% Ácido fórmico) durante 2 minutos.

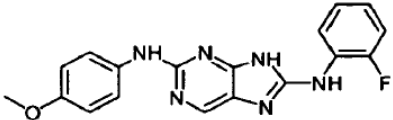
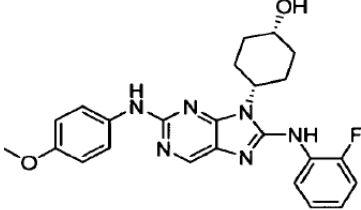
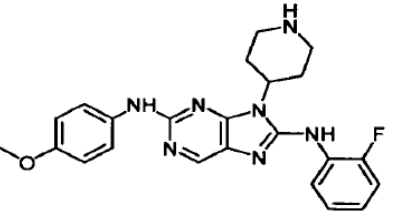
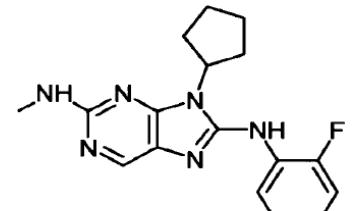
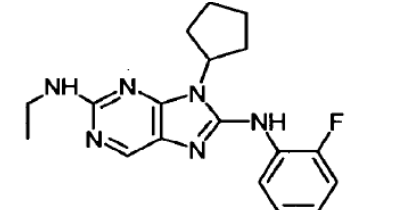
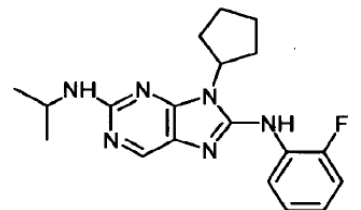
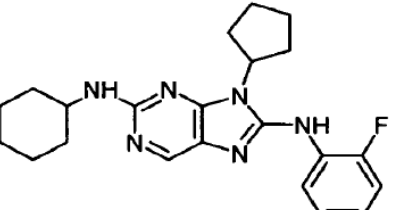
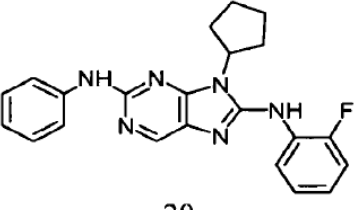
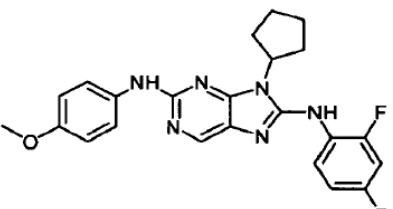
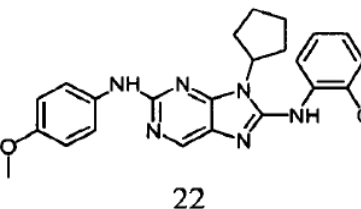
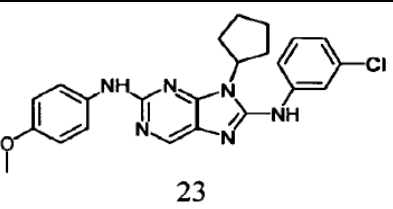
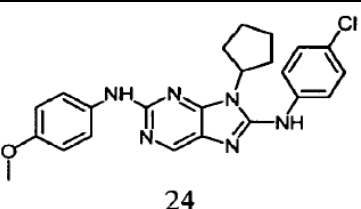
- 20 Procedimiento F: 10% Acetonitrilo/Agua (0,1% Ácido fórmico) durante los primeros dos minutos, 10-100% Acetonitrilo/Agua (0,1% Ácido fórmico) de 2 minutos a 25 minutos.

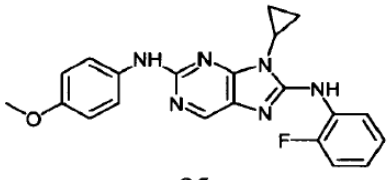
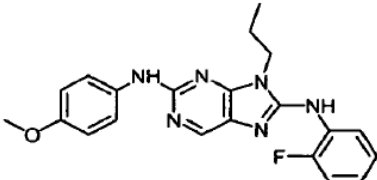
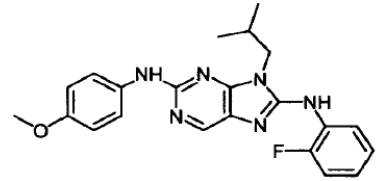
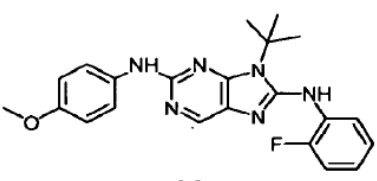
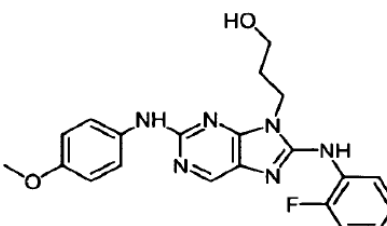
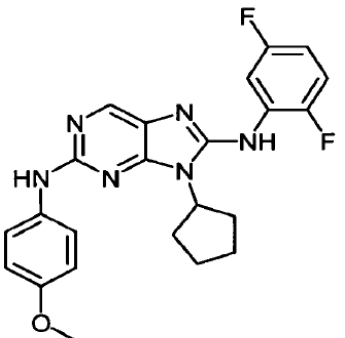
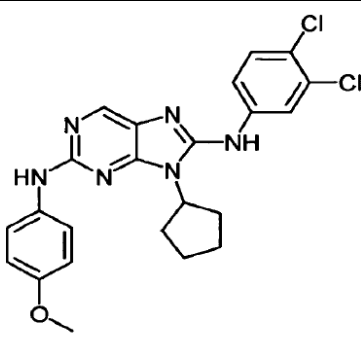
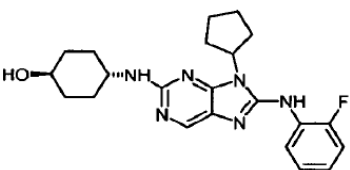
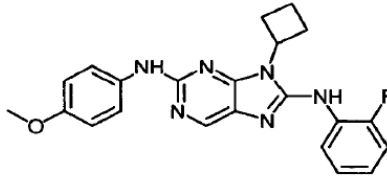
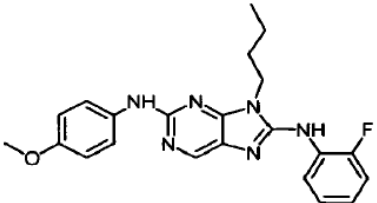
Los Compuestos de Aminopurina representativos se exponen en la Tabla 1, más abajo.

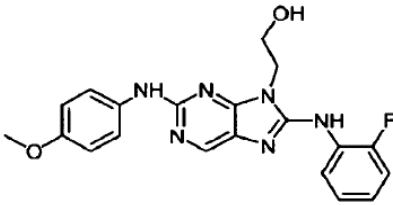
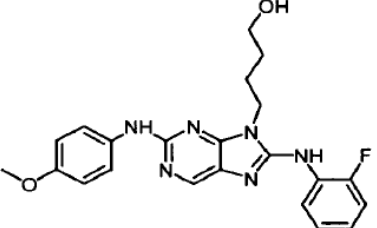
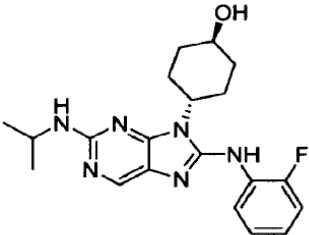
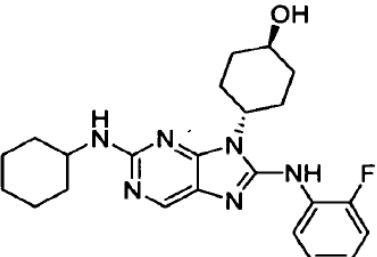
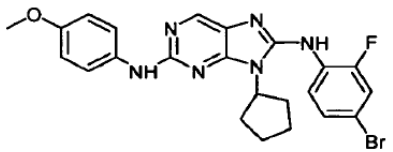
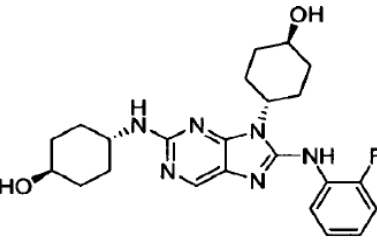
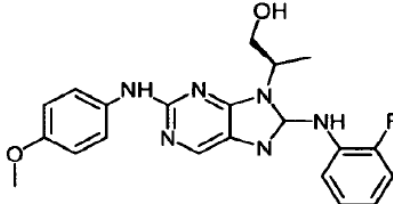
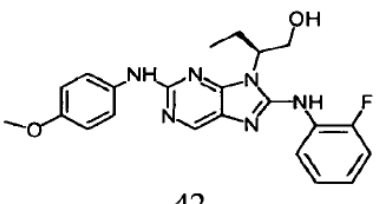
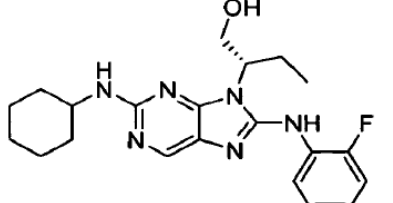
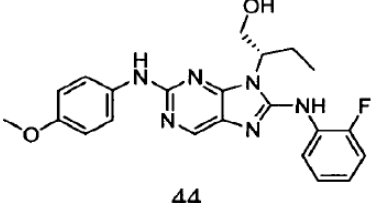
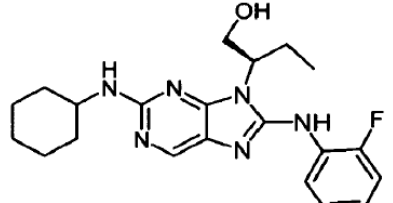
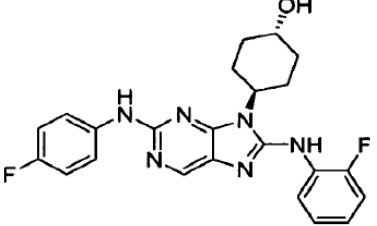
Tabla 1

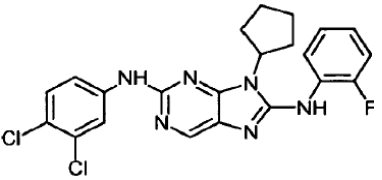
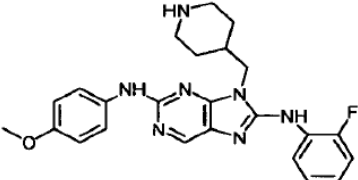
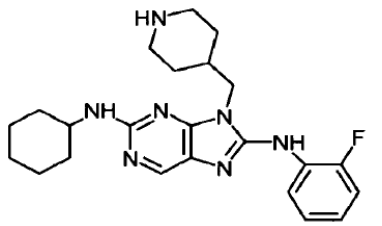
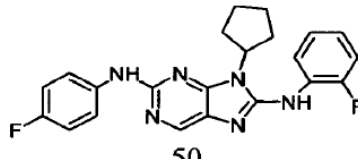
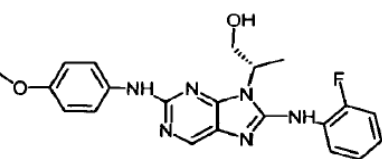
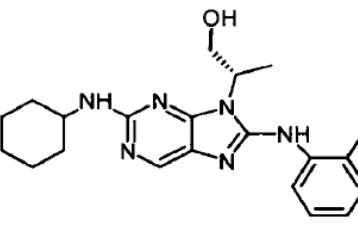
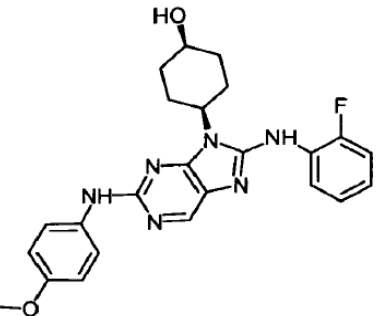
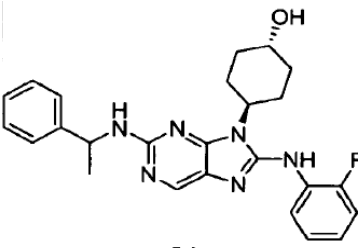
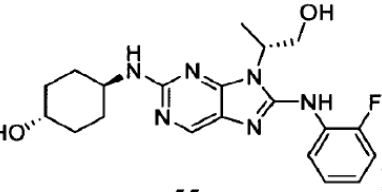
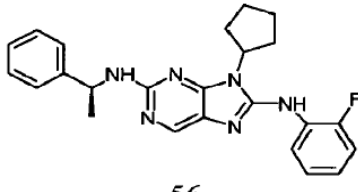
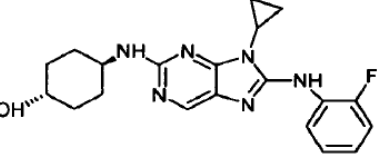
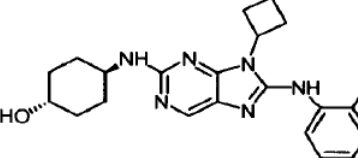
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 1	419,1 (10,32/B)	 2	419,6 (9,40/B)
 3	396,2 (2,51/E)	 4	353,41 (3,49/E)
 5	403,7 (15,98/D)	 6	419,1 (10,57/B)
 7	419,4 (9,517/B)	 8	427,2 (9,3/B)
 9	433,5 (9,817/B)	 10	393,3 (8,950/B)
 11	365,4 (8,083/B)	 12	379,5 (8,517/B)

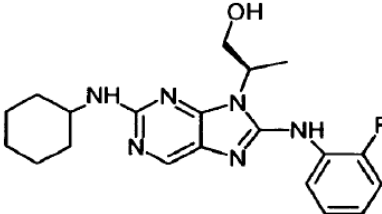
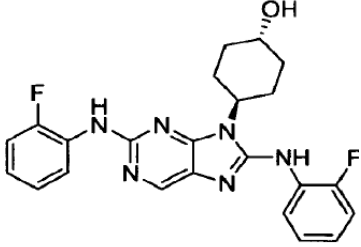
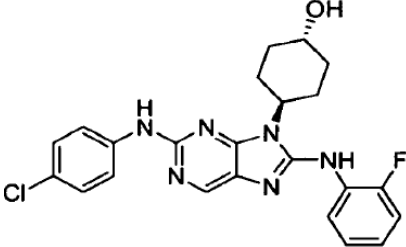
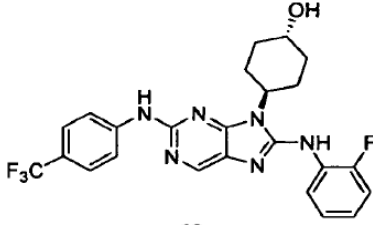
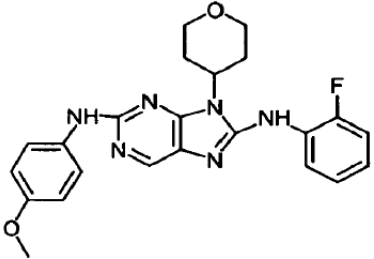
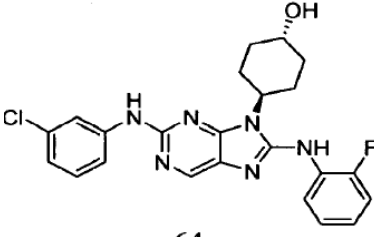
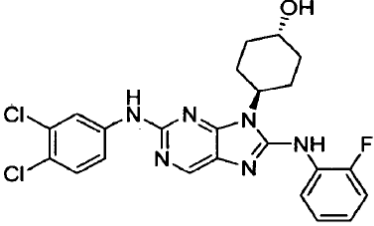
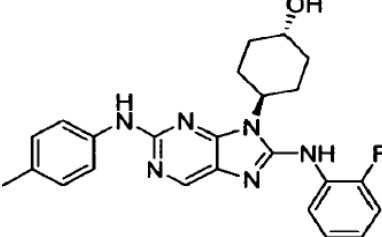
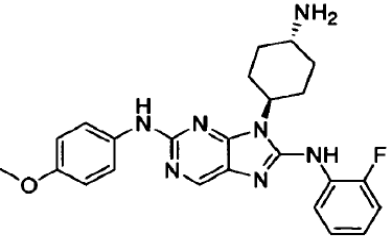
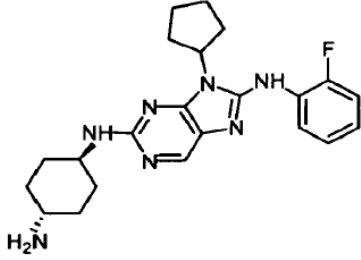


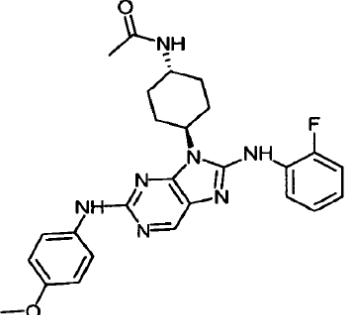
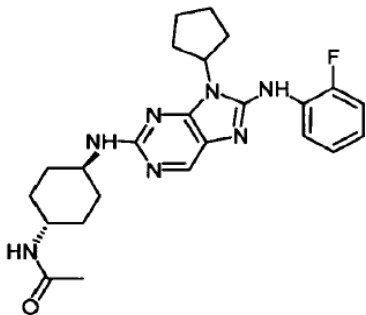
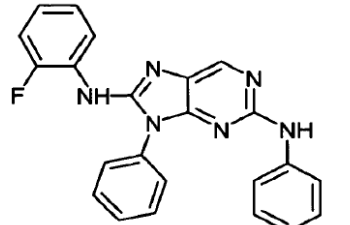
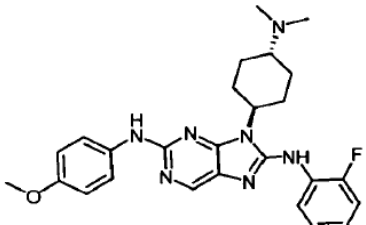
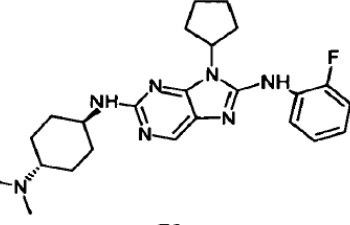
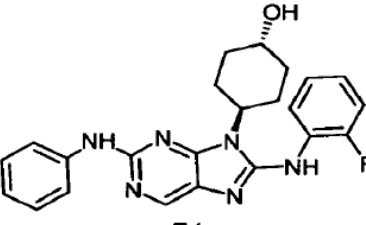
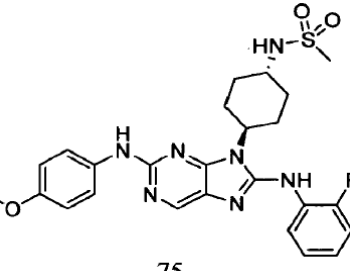
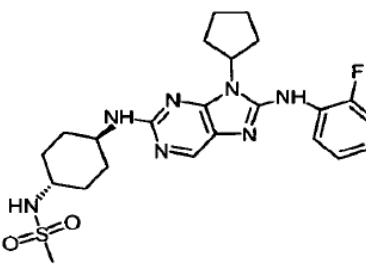
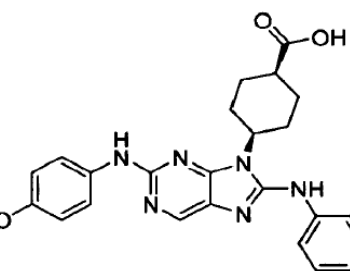
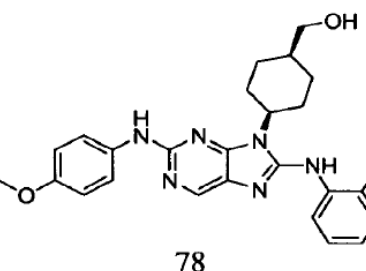
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 13	351,1 (8.98/B)	 14	449,5 (7.67/B)
 15	434,4 (6.283/B)	 16	327,3 (8.433/B)
 17	341,2 (8.883/B)	 18	355,3 (9.267/B)
 19	395,4 (10.183/B)	 20	389,3 (9.533/B)
 21	437,2 (9.37/B)	 22	435,2 (10.89/B)
 23	435,2 (10.89/B)	 24	435,2 (10.89/B)

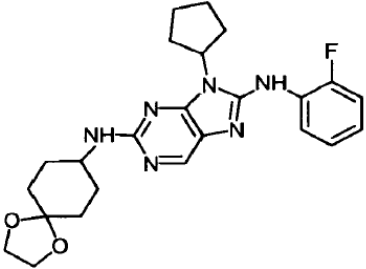
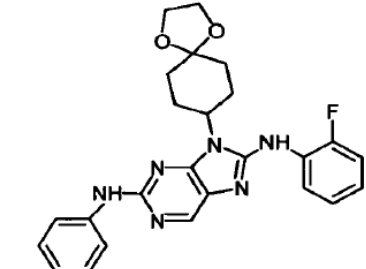
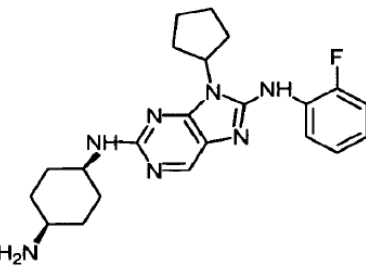
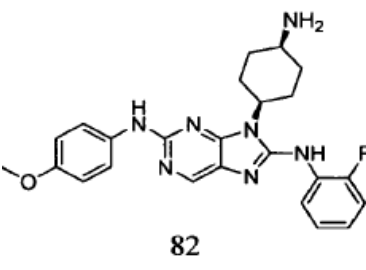
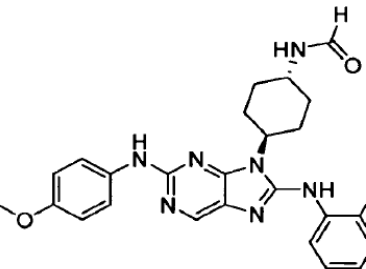
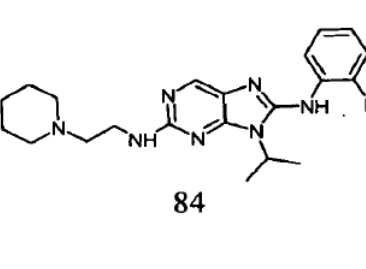
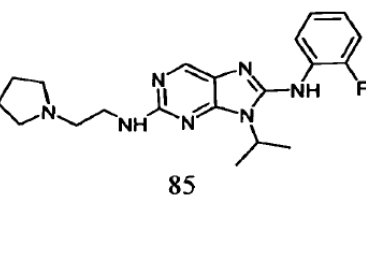
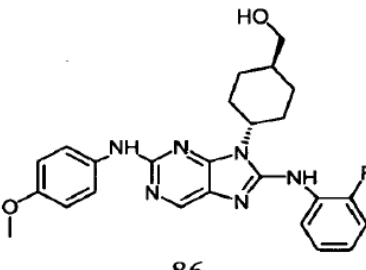
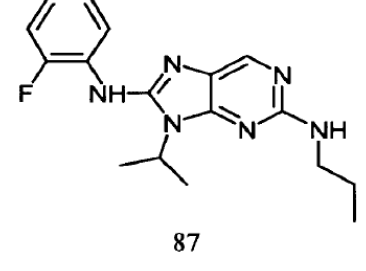
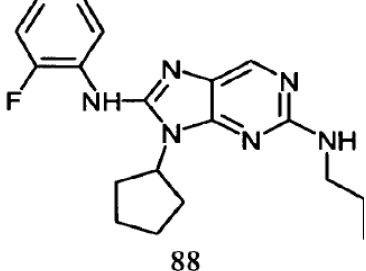
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>25</p>	390,42 (8.717/B)	 <p>26</p>	393,1 (8.917/B)
 <p>27</p>	407,5 (9.317/B)	 <p>28</p>	407,5 (9.467/B)
 <p>29</p>	409,4 (10.583/A)	 <p>30</p>	437,2 (13.94/A)
 <p>31</p>	469,2 (15.06/A)	 <p>32</p>	411,35 (3.27/E)
 <p>33</p>	404,45 (13.388/A)	 <p>34</p>	407,5 (10.315/B)

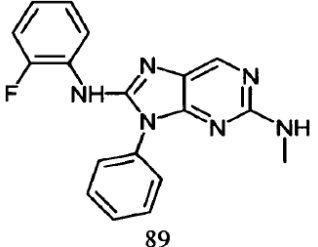
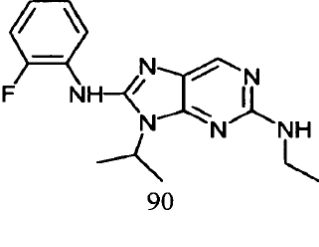
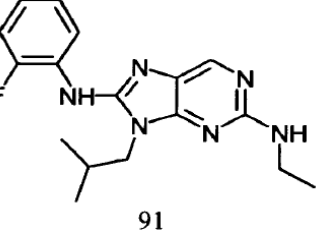
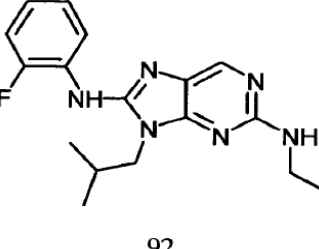
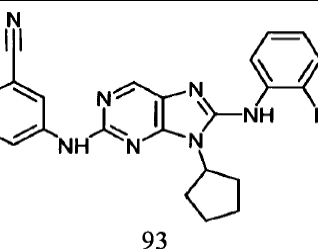
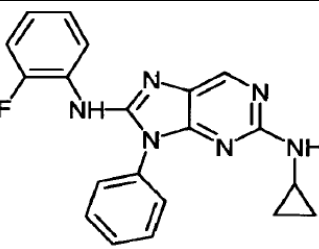
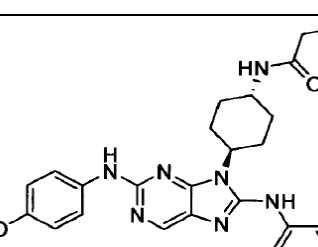
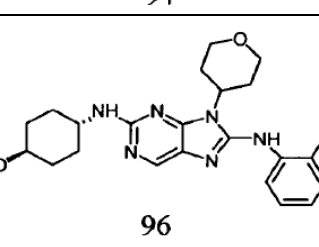
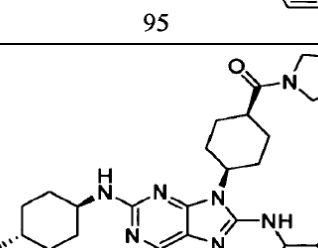
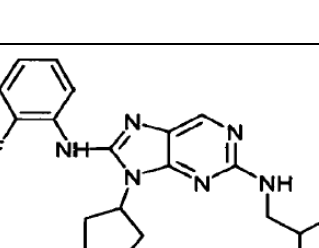
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>35</p>	395,2 (12.1/A)	 <p>36</p>	423,4 (11.68/A)
 <p>37</p>	385,4 (11.164 /A)	 <p>38</p>	425,4 (8.25/B)
 <p>39</p>	497,2 (18.04/B)	 <p>40</p>	441,3 (13.557/B)
 <p>41</p>	409,2 (9.216/B)	 <p>42</p>	423,4 (8.633/B)
 <p>43</p>	398,49 (9.067/B)	 <p>44</p>	423,4 (8.633/B)
 <p>45</p>	398,49 (9.067/B)	 <p>46</p>	437 (8.82 /B)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 47	457,3 (11.82/B)	 48	448,3 (8.867/A)
 49	424,5 (9.083/B)	 50	407,4 (10.37/B)
 51	409,3 (9.269/B)	 52	385 (9.643/B)
 53	449,4 (10.717/A)	 54	447,4 (11.63/A)
 55	401,1 (8.757/B)	 56	417,4 (9.65/B)
 57	383,4 (11.5/C)	 58	397,2 (12.286/C)

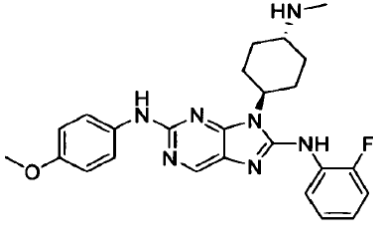
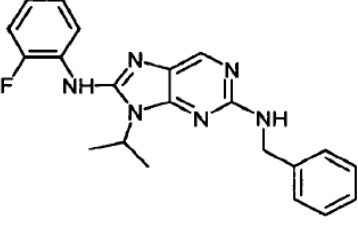
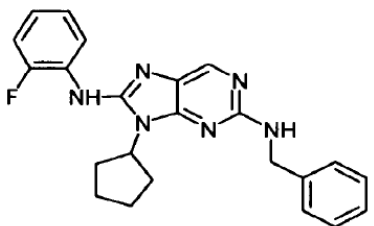
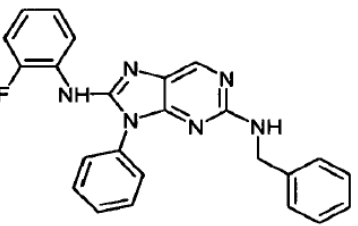
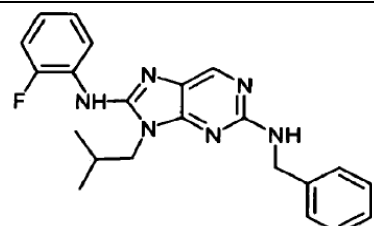
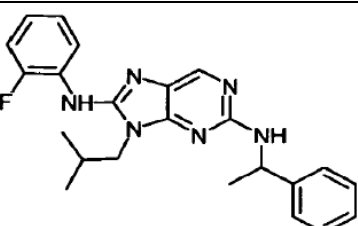
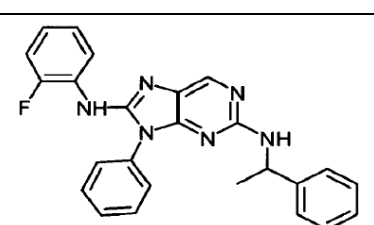
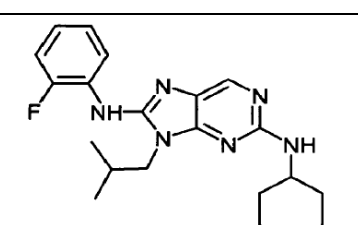
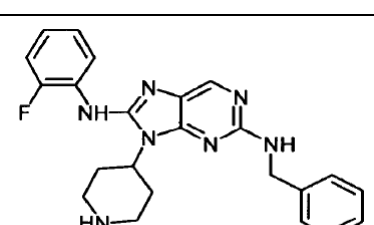
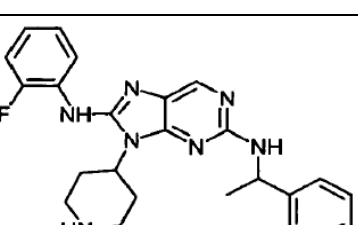
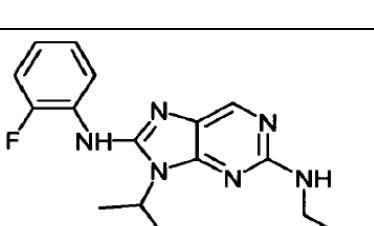
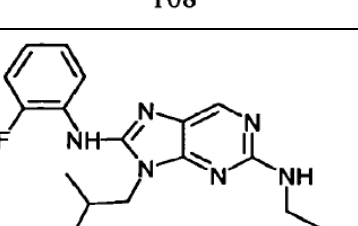
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>59</p>	385,1 (10.496/B)	 <p>60</p>	437,1 (7.58/B)
 <p>61</p>	453,22 (8.28/B)	 <p>62</p>	487 (8.87/B)
 <p>63</p>	435,4 (8.133/B)	 <p>64</p>	453,2 (8.22/B)
 <p>65</p>	487.1 (8.92/B)	 <p>66</p>	433,2 (7.93/B)
 <p>67</p>	448,3 (8.85/A)	 <p>68</p>	410,6 (9.517/A)

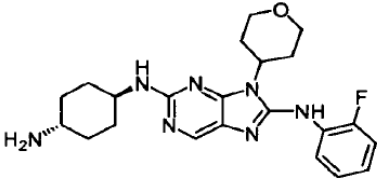
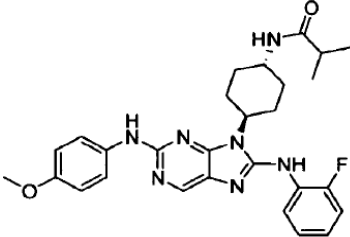
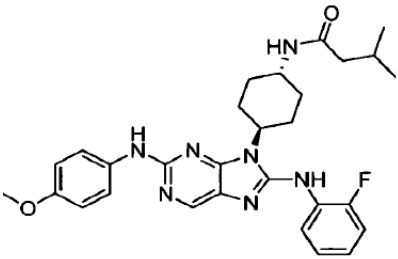
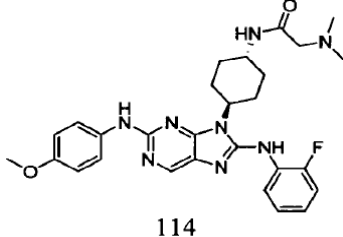
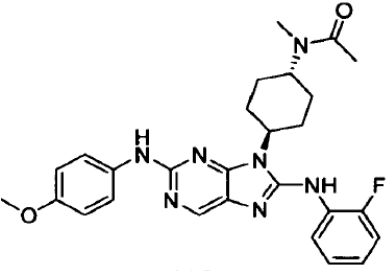
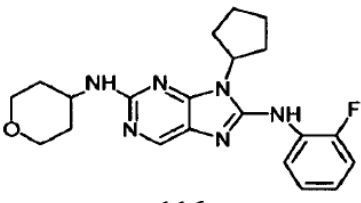
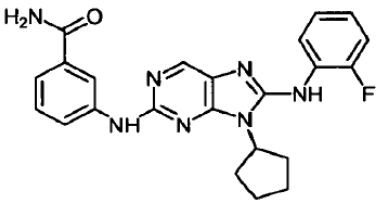
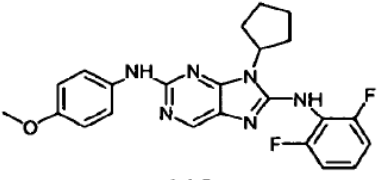
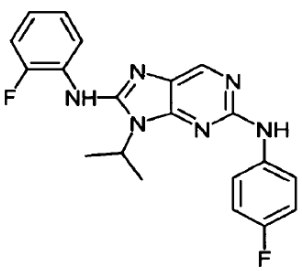
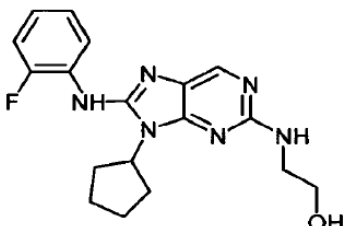
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>69</p>	490,5 (7.617/B)	 <p>70</p>	452,3 (11.072/B)
 <p>71</p>	397,4 (5.15/E)	 <p>72</p>	476,4 (8.983/A)
 <p>73</p>	438,6 (9.25/A)	 <p>74</p>	419,4 (7.53/B)
 <p>75</p>	526,5 (9.056/B)	 <p>76</p>	488,4 (10.741/B)
 <p>77</p>	477,3 (9.141/B)	 <p>78</p>	463,5 (8.992/B)

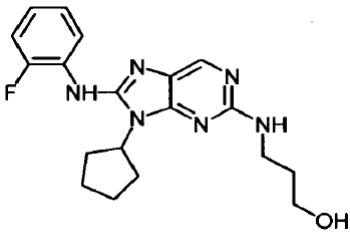
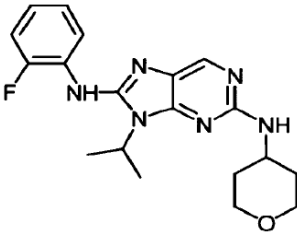
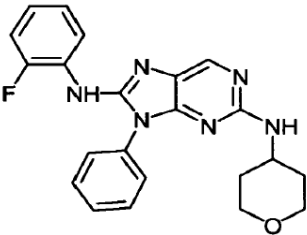
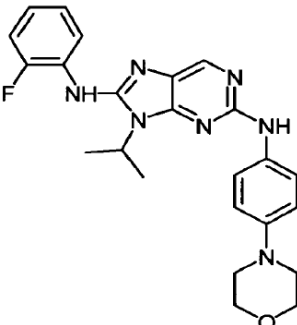
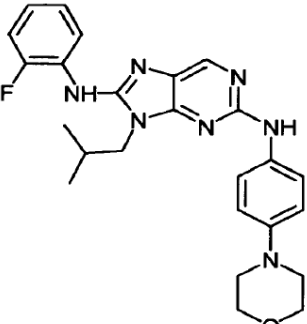
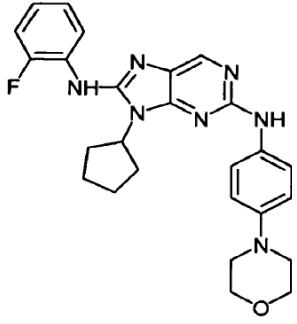
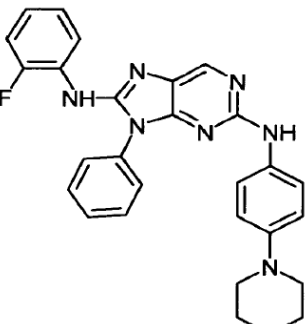
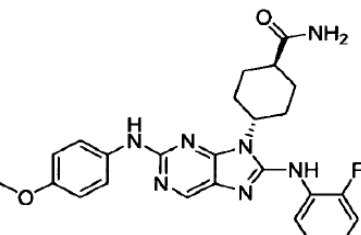
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 79	453,3 (8.767/B)	 80	491,5 (8.767/B)
 81	410,4 (9.1/A)	 82	448,4 (8.8/A)
 83	476,7 (7.55/B)	 84	398,4 (8.72/A)
 85	384,2 (11.75/A)	 86	463 (9.941/B)
 87	329,15 (3.41/E)	 88	355,25 (3.72 /E)

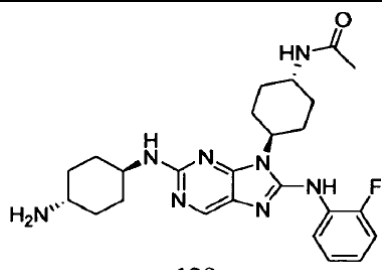
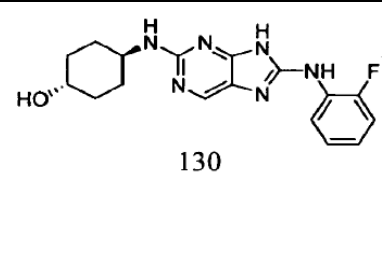
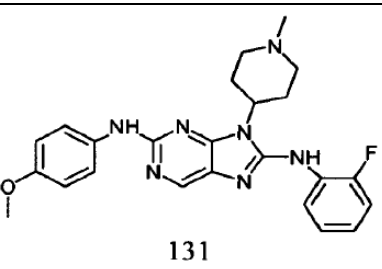
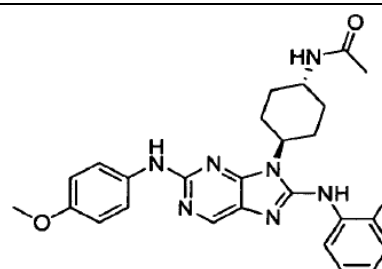
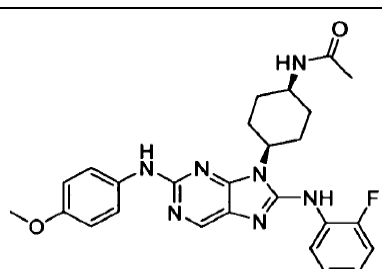
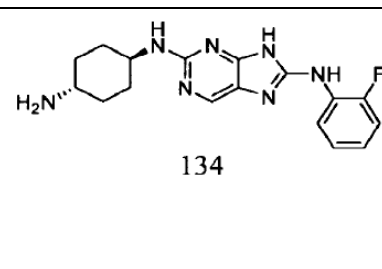
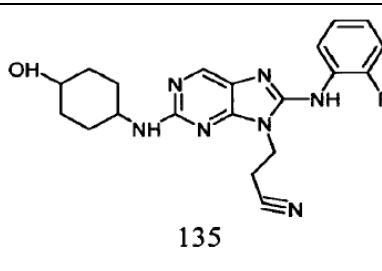
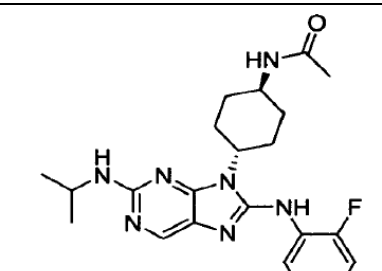
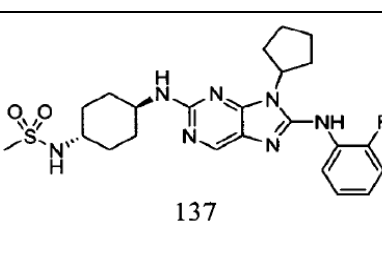
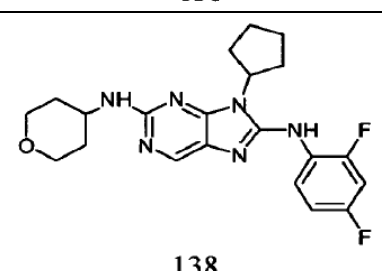
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>89</p>	335,15 (3.25/E)	 <p>90</p>	315,4 (3.24/E)
 <p>91</p>	329,4 (3.25/E)	 <p>92</p>	343,25 (3.62/E)
 <p>93</p>	414,4 (9,27/B)	 <p>94</p>	361,4 (3.37/E)
 <p>95</p>	504,5 (10.98/A)	 <p>96</p>	427,1 (9.183/B)
 <p>97</p>	540,6 (13.3/C)	 <p>98</p>	369,45 (3.9/E)

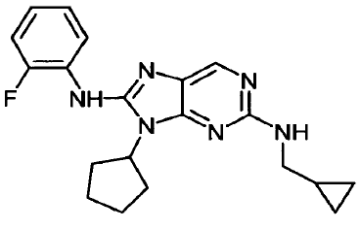
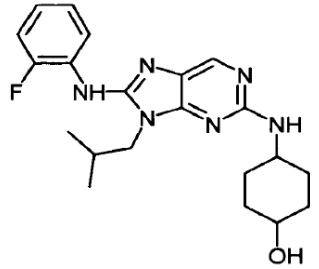
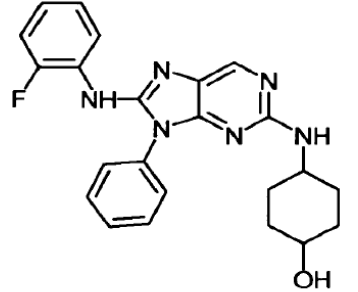
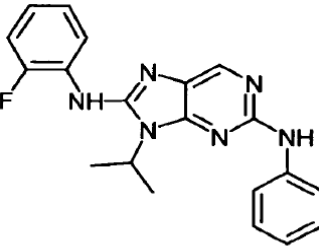
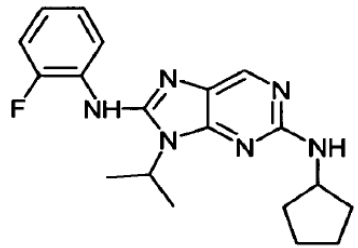
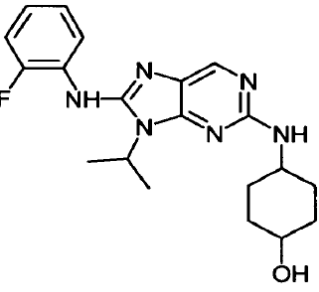
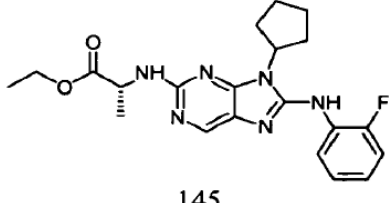
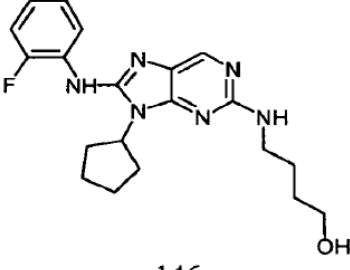
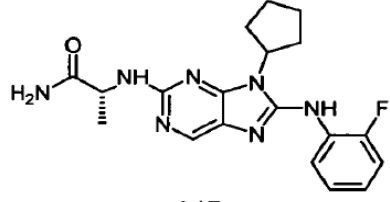
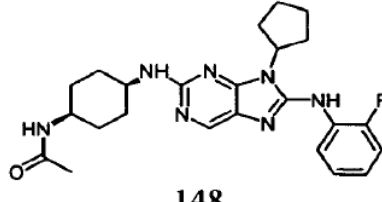


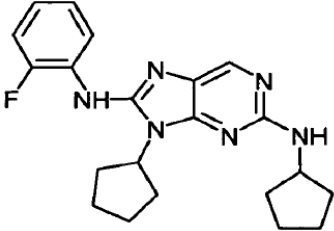
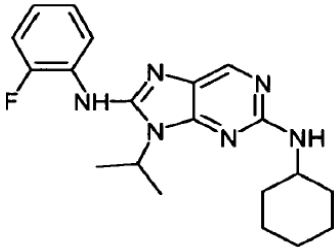
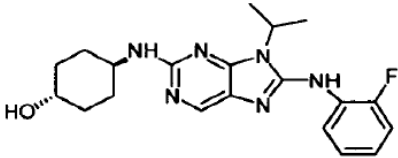
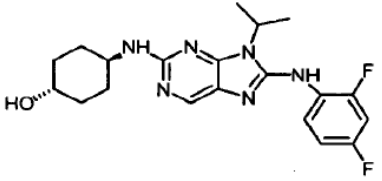
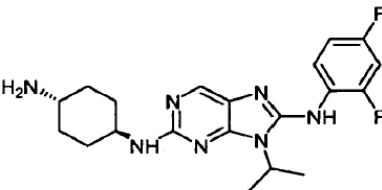
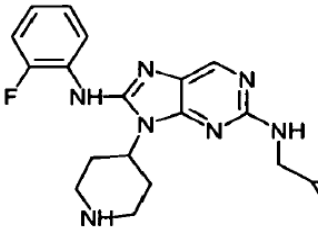
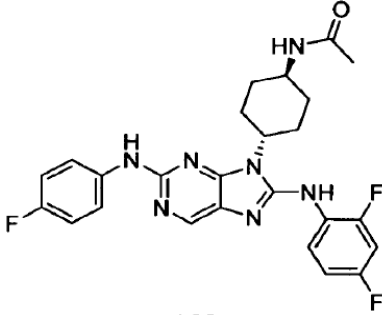
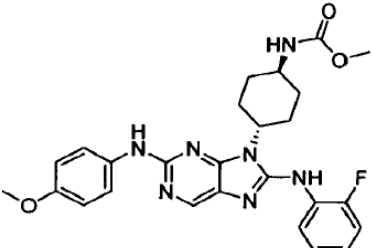
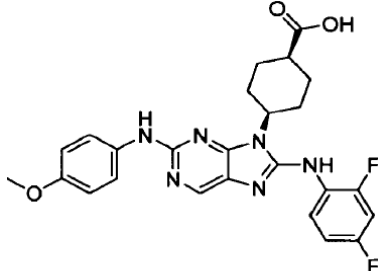
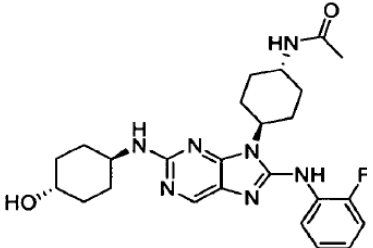
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>99</p>	462,3 (9,02/A)	 <p>100</p>	377,4 (11.02/F)
 <p>101</p>	403,4 (12.16/F)	 <p>102</p>	411,1 (12.84/F)
 <p>103</p>	391,4 (11.85/F)	 <p>104</p>	405,4 (12.39/F)
 <p>105</p>	425,4 (13.54/F)	 <p>106</p>	383,4 (4.04/E)
 <p>107</p>	418,4 (6.12/F)	 <p>108</p>	432,5 (6.48/F)
 <p>109</p>	331,4 (7.7/F)	 <p>110</p>	345,4 (8.63/F)

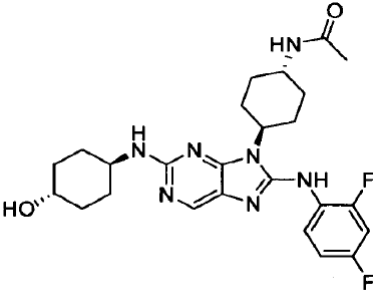
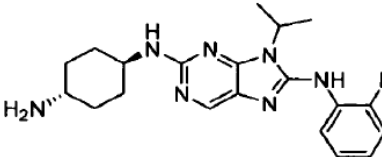
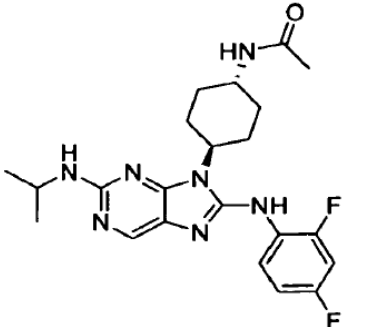
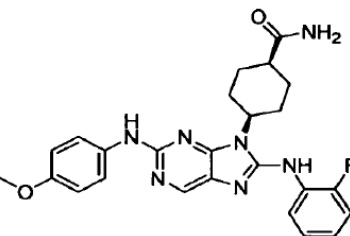
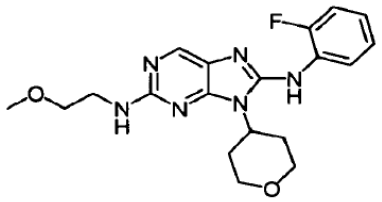
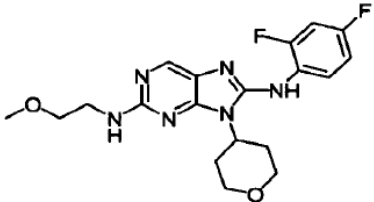
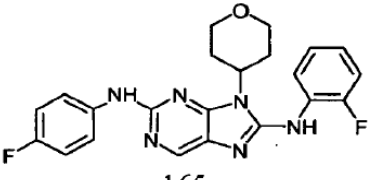
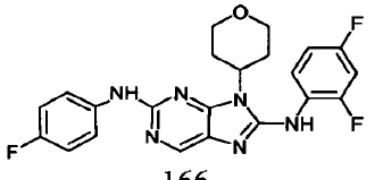
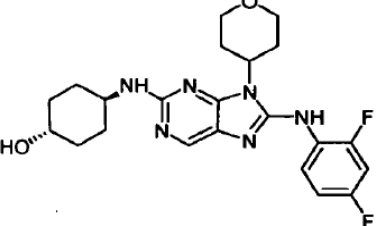
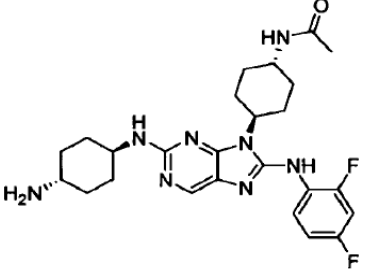
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>111</p>	426,2 (8.550/A)	 <p>112</p>	518,6 (8.48/B)
 <p>113</p>	532,6 (8.82/B)	 <p>114</p>	533,5 (6,53/B)
 <p>115</p>	504,6 (8.00/B)	 <p>116</p>	397,4 (8.12/B)
 <p>117</p>	432,1 (7.60/B)	 <p>118</p>	437,4 (11.040/B)
 <p>119</p>	381,05 (4.55/E)	 <p>120</p>	357,4 (8.84/F)

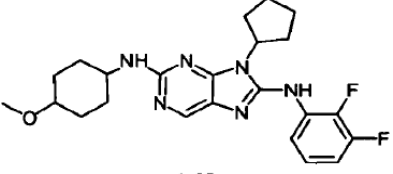
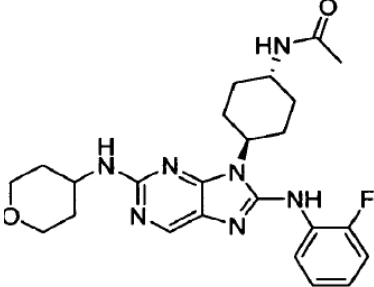
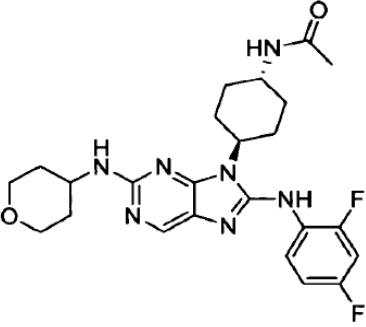
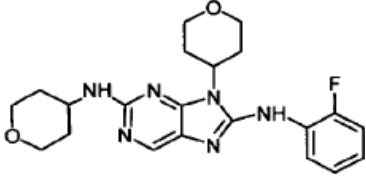
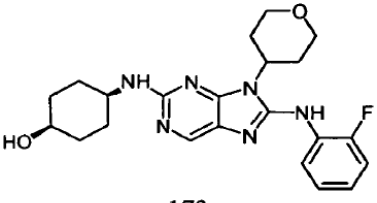
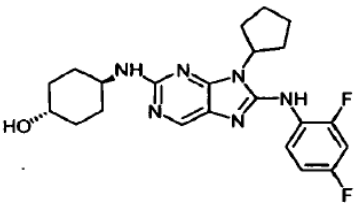
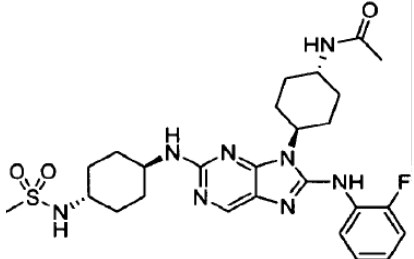
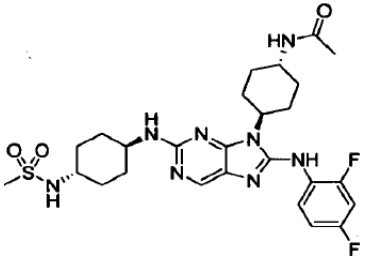
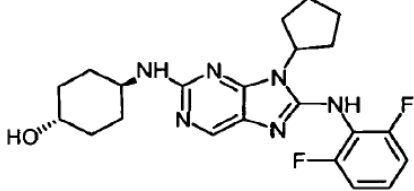
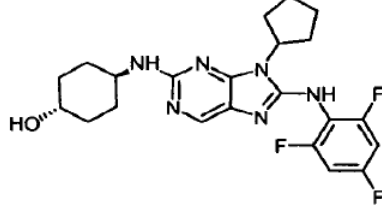
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>121</p>	371,4 (9.09/F)	 <p>122</p>	371,15 (3.17/E)
 <p>123</p>	405,4 (10.3/F)	 <p>124</p>	448,1 (3.72/E)
 <p>125</p>	462,55 (11.69/F)	 <p>126</p>	474,5 (11.97/F)
 <p>127</p>	482,5 (13.31/F)	 <p>128</p>	476,6 (11.019/B)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>129</p>	481,3 (8.67/A)	 <p>130</p>	343,4 (6.25/B)
 <p>131</p>	448,6 (10.733/A)	 <p>132</p>	508,3 (8.517/B)
 <p>133</p>	489,56	 <p>134</p>	342,4 (8.05/A)
 <p>135</p>	396 (6.33/B)	 <p>136</p>	426,1 (9.707/B)
 <p>137</p>	488,5 (9.045/B)	 <p>138</p>	415,3 (8.22/B)

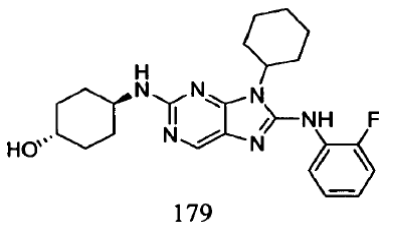
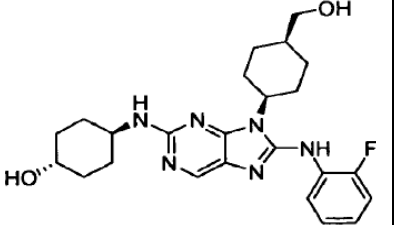
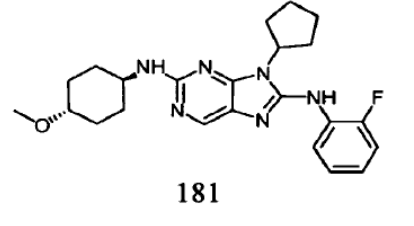
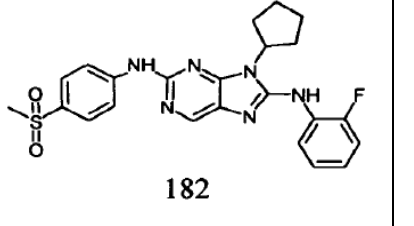
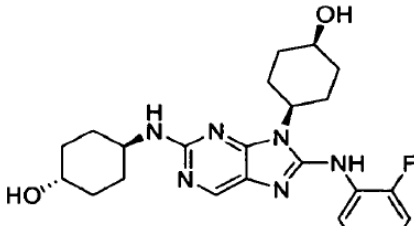
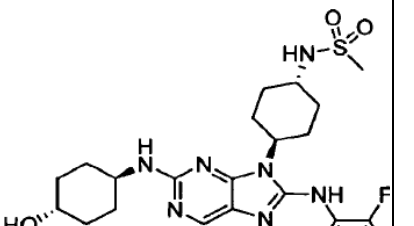
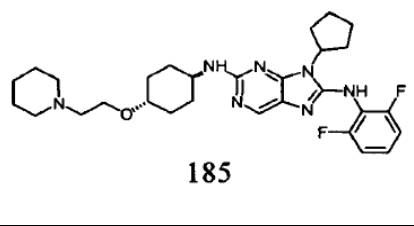
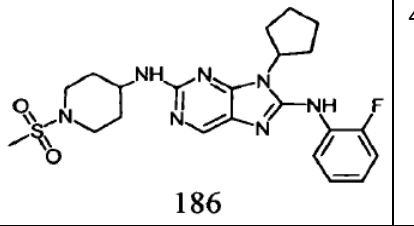
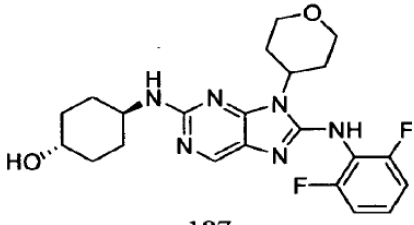
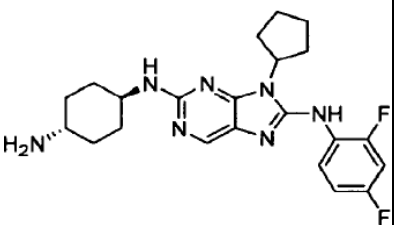
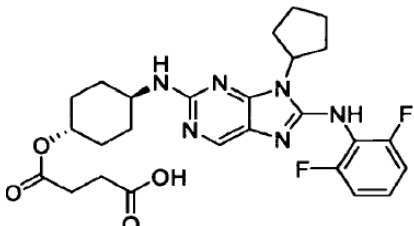
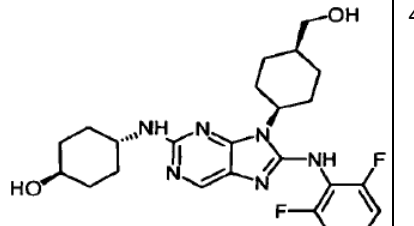
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>139</p>	367,4 (3.76/E)	 <p>140</p>	399,5 (3.23/E)
 <p>141</p>	419,45 (3.31/E)	 <p>142</p>	363,35 (4.39/E)
 <p>143</p>	355,4 (3.67/E)	 <p>144</p>	385,4 (3.05/E)
 <p>145</p>	413,5 (8.62/B)	 <p>146</p>	385,1 (3.28/E)
 <p>147</p>	384,2 (9.58/A)	 <p>148</p>	452,5 (7.717/B)

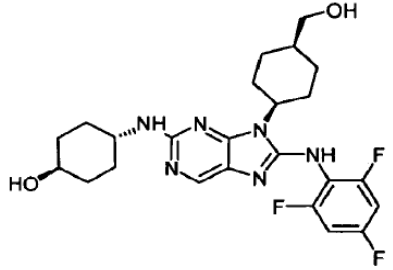
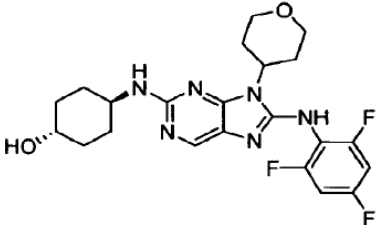
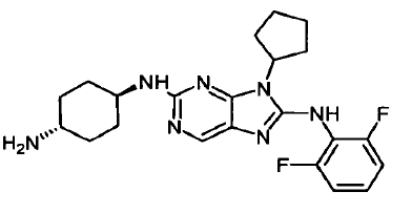
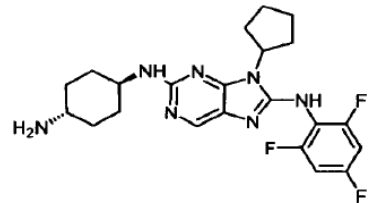
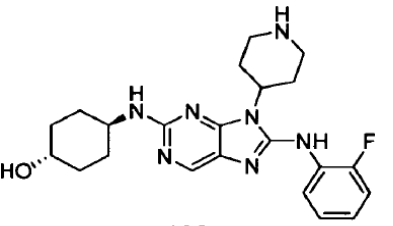
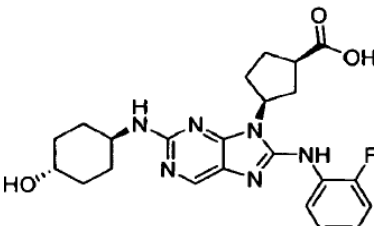
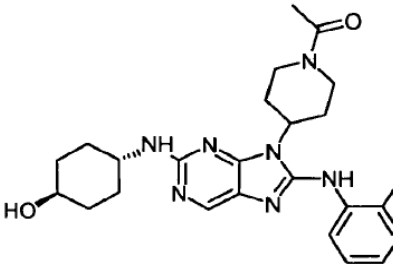
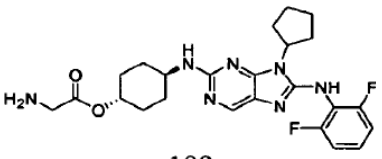
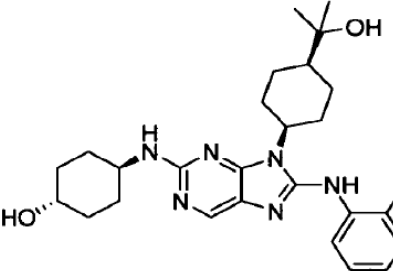
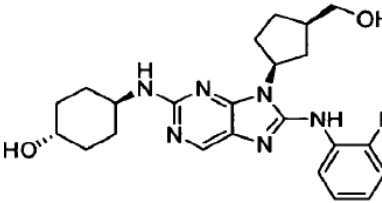
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>149</p>	381,5 (3.97/E)	 <p>150</p>	369,5 (3.84/E)
 <p>151</p>	385,4 (7.15/B)	 <p>152</p>	403,3 (7.28/B)
 <p>153</p>	402,1 (6.18/B)	 <p>154</p>	382,4 (2.23/E)
 <p>155</p>	496,1 (7.87/B)	 <p>156</p>	506,5 (8.40/B)
 <p>157</p>	495,4 (11.467/B)	 <p>158</p>	482,5 (9.48/A)

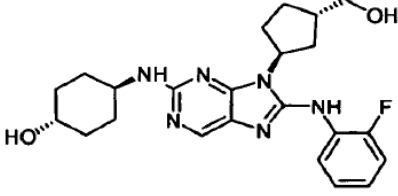
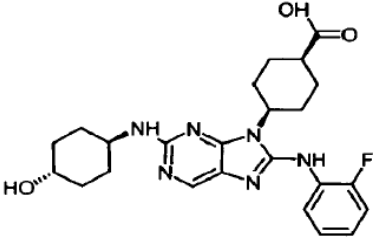
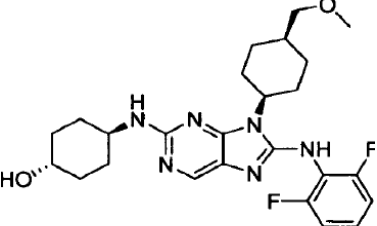
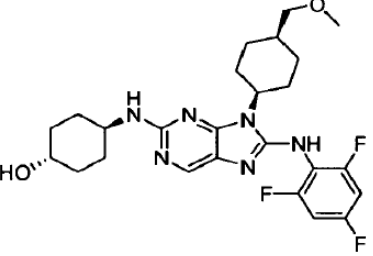
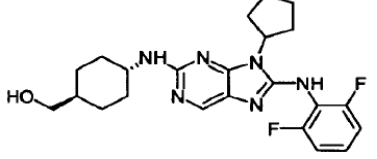
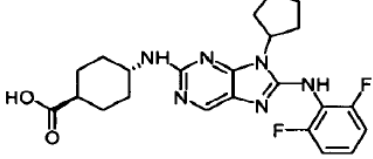
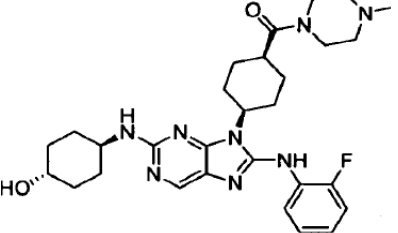
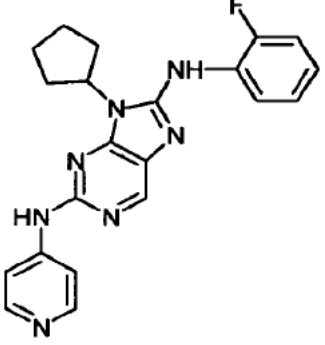
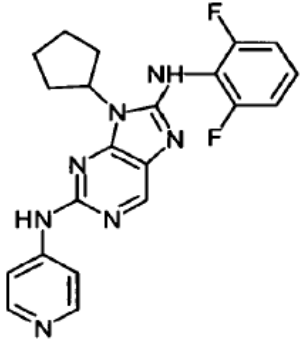
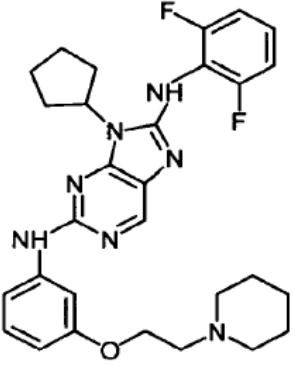
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>159</p>	500,4 (10.52/B)	 <p>160</p>	384,5 (8.65/A)
 <p>161</p>	444,3 (10.837/B)	 <p>162</p>	476,5 (7.417/B)
 <p>163</p>	401,1 (9.97/A)	 <p>164</p>	419,2 (10.13/A)
 <p>165</p>	423,3 (8.37/A)	 <p>166</p>	441,3 (8.82/B)
 <p>167</p>	445,4 (6.800/B)	 <p>168</p>	499,5 (8.83/A)

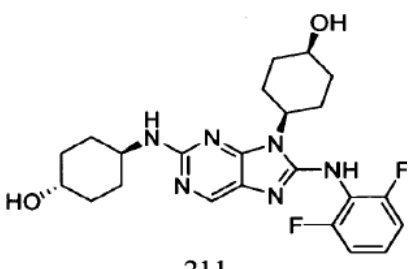
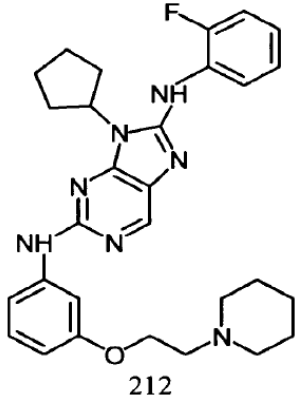
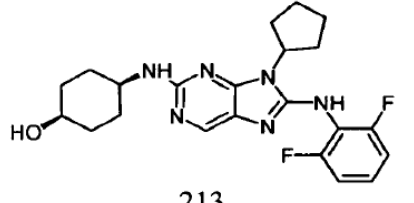
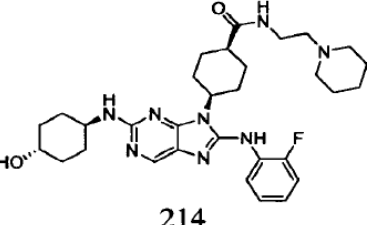
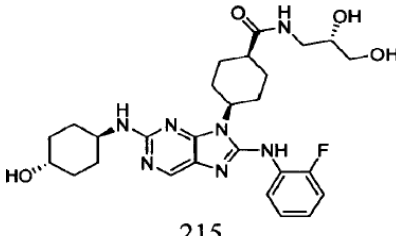
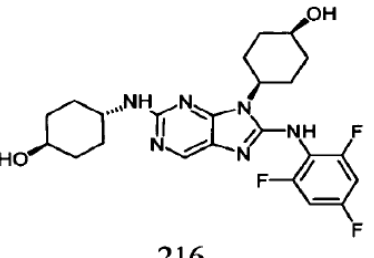
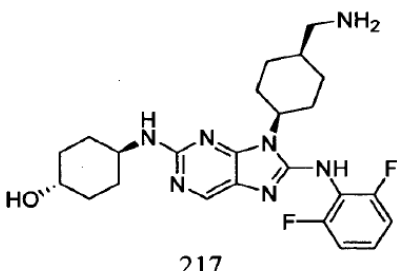
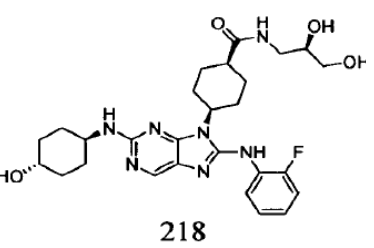
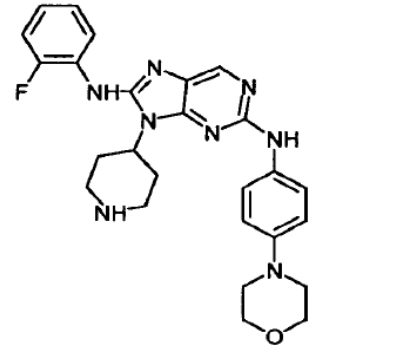
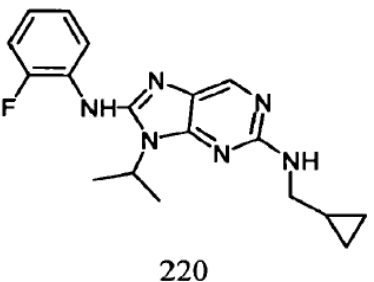
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>169</p>	437,4 (12.757/B)	 <p>170</p>	468,4 (9.50/A)
 <p>171</p>	486,5 (9.67/A)	 <p>172</p>	413,2 (11.061/B)
 <p>173</p>	427,2 (11.072/B)	 <p>174</p>	429 (10.67/A)
 <p>175</p>	559,2 (9.85/A)	 <p>176</p>	577,5 (10.02/A)
 <p>177</p>	429,4 (10.57/A)	 <p>178</p>	447,4 (10.80/A)

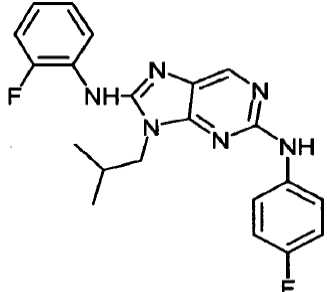
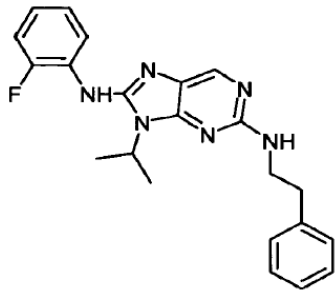
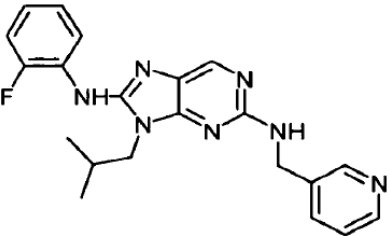
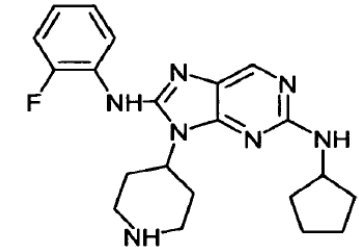
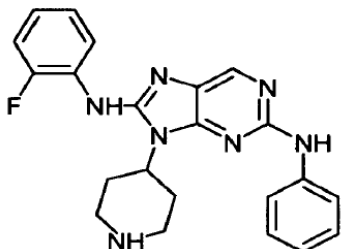
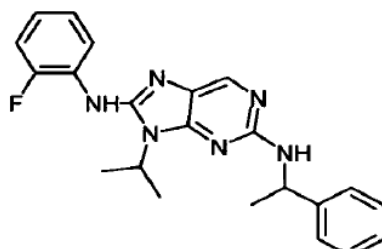
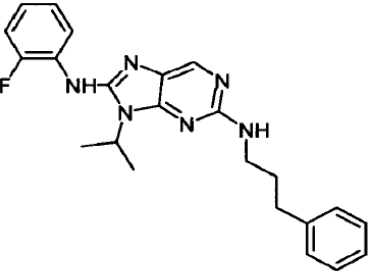
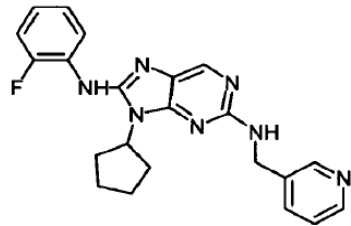
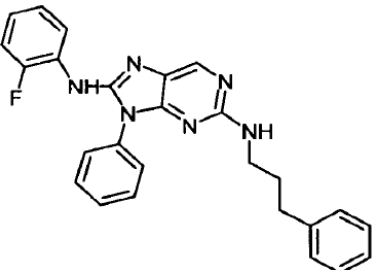
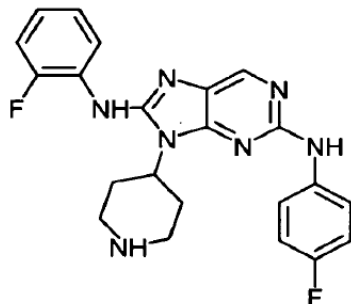


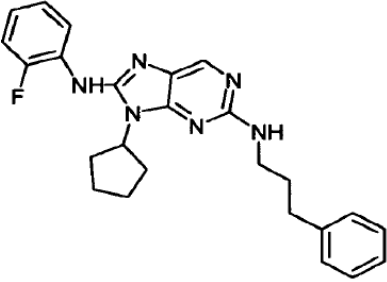
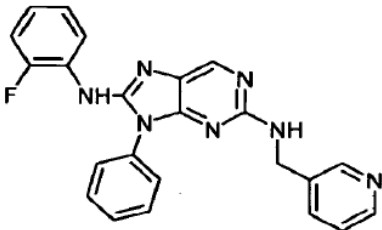
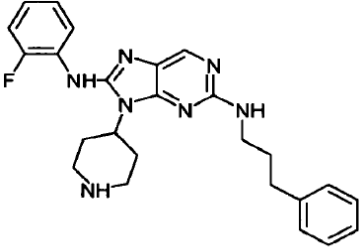
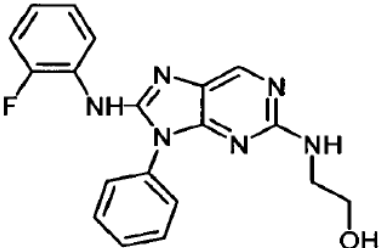
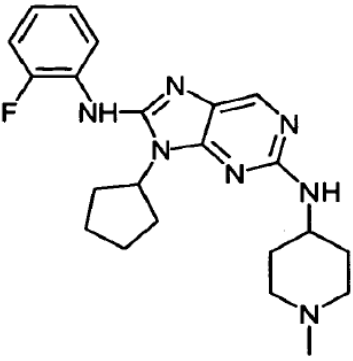
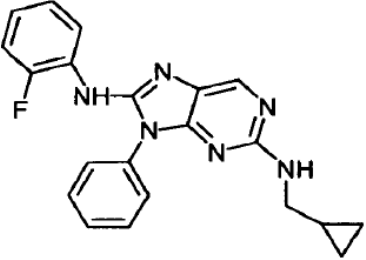
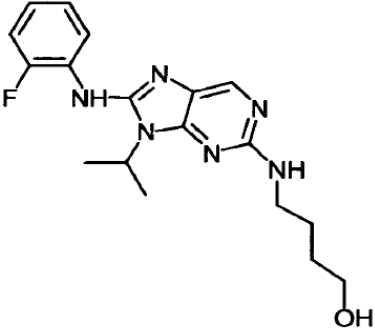
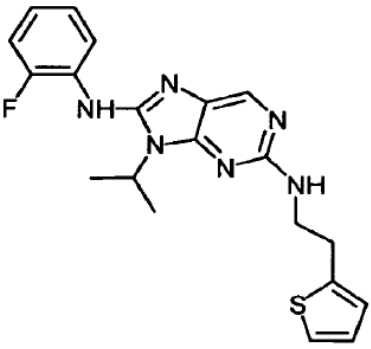
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>179</p>	425,4 (8.067/B)	 <p>180</p>	455,1 (7.100/B)
 <p>181</p>	425,3 (11.78/A)	 <p>182</p>	467,4 (11.45/A)
 <p>183</p>	441,5 (7.563/B)	 <p>184</p>	518,5 (6.967/B)
 <p>185</p>	540,3 (10.1/A)	 <p>186</p>	474,3 (15.381/B)
 <p>187</p>	445,4 (10.944/B)	 <p>188</p>	428,4 (9.17/A)
 <p>189</p>	529 (16.256/B)	 <p>190</p>	473,4 (14.624/B)

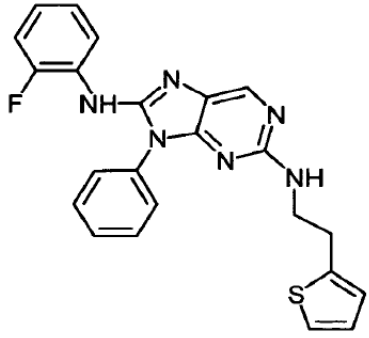
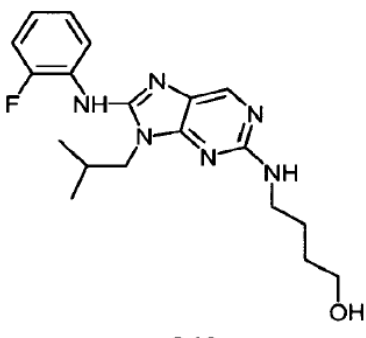
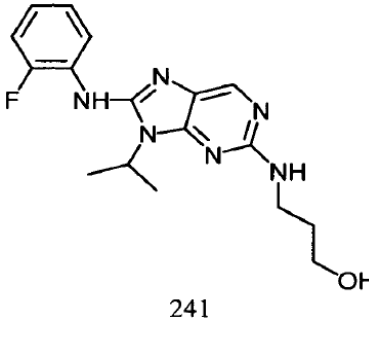
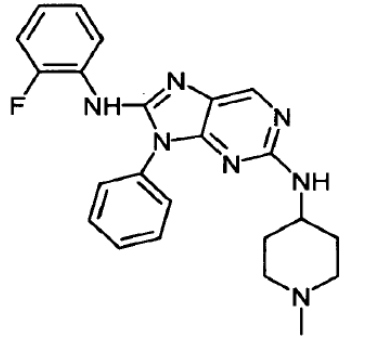
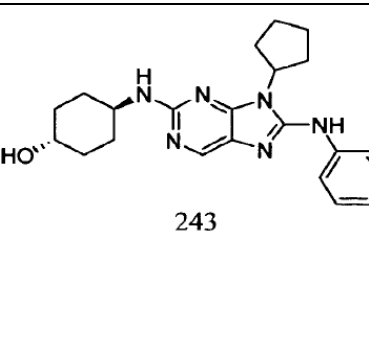
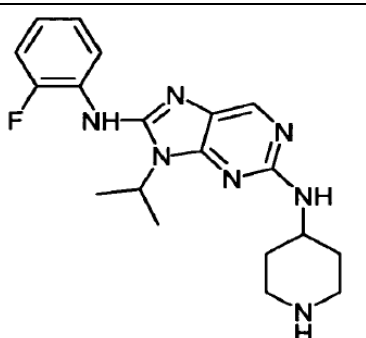
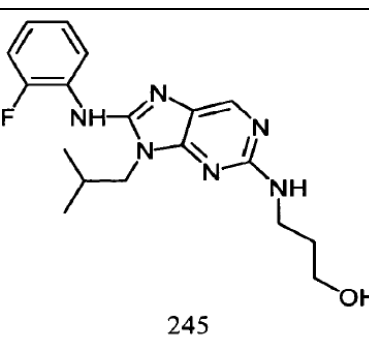
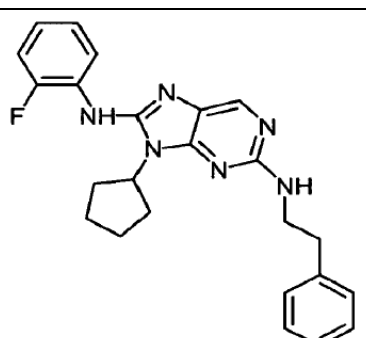
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>191</p>	473,4 (14.624/B)	 <p>192</p>	463,4 (7.050/B)
 <p>193</p>	428,4 (9.05/A)	 <p>194</p>	446,4 (9.30/A)
 <p>195</p>	426,4 (5.600/B)	 <p>196</p>	455,4 (9.617/A)
 <p>197</p>	468,5 (6.567/B)	 <p>198</p>	486 (9.467/A)
 <p>199</p>	483,5 (7.58/B)	 <p>200</p>	441,3 (9.483/A)

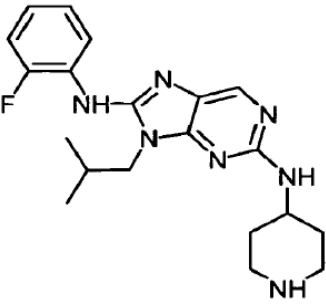
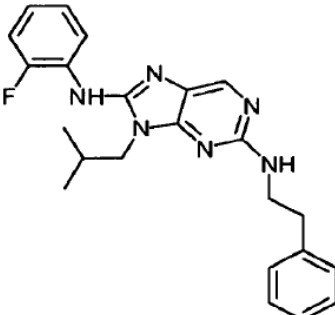
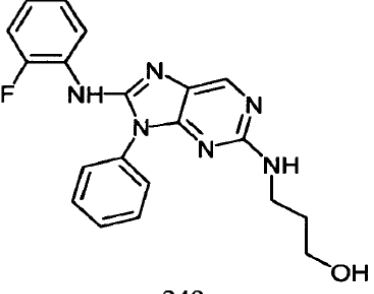
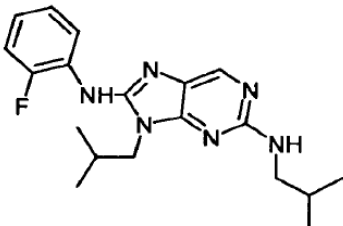
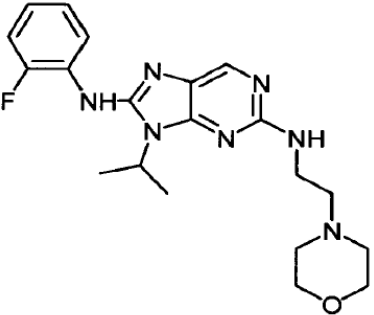
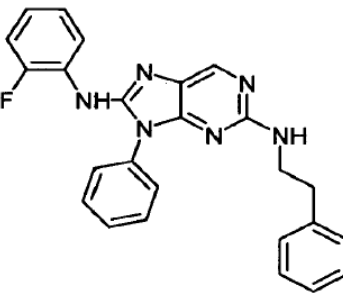
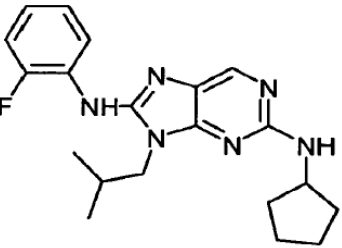
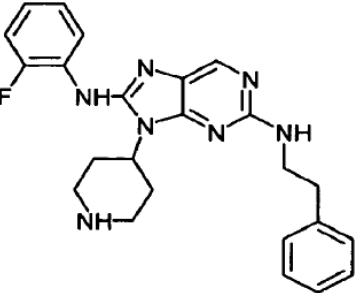
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>201</p>	441,5 (9.433/A)	 <p>202</p>	469,3 (8.533/B)
 <p>203</p>	487,5 (10.66/A)	 <p>204</p>	505,5 (8.017/B)
 <p>205</p>	443,4 (8.156/B)	 <p>206</p>	457 (8.000/B)
 <p>207</p>	551,6 (9.95/C)	 <p>208</p>	390,2 (7.10/B)
 <p>209</p>	408,4 (8.52/B)	 <p>210</p>	534,4 (7.52/B)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>211</p>	459 (7.983/B)	 <p>212</p>	516,3 (7.48/B)
 <p>213</p>	429 (9.233/B)	 <p>214</p>	579,5 (10.37/C)
 <p>215</p>	542,4 (10.57/C)	 <p>216</p>	477,5 (8.233/B)
 <p>217</p>	472,5 (8.467/A)	 <p>218</p>	542,3 (10.57/C)
 <p>219</p>	489,2 (2.6/E)	 <p>220</p>	341,45 (3.44/E)

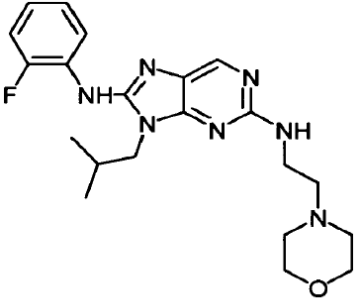
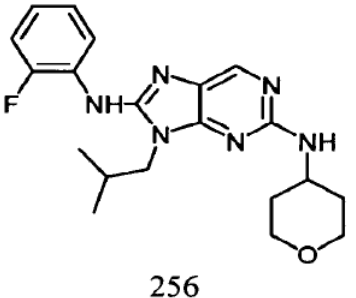
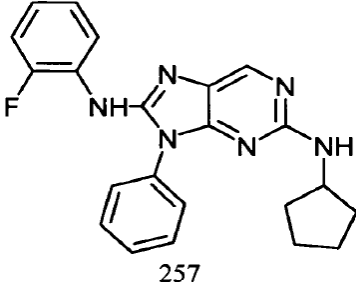
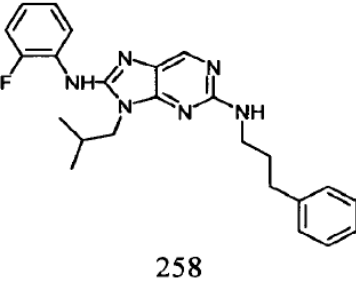
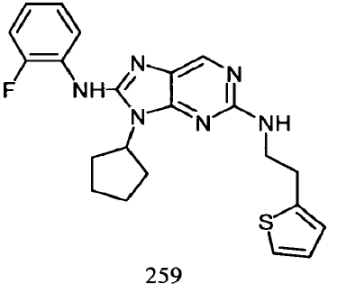
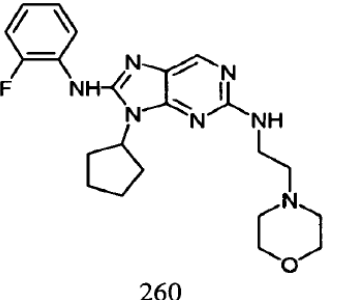
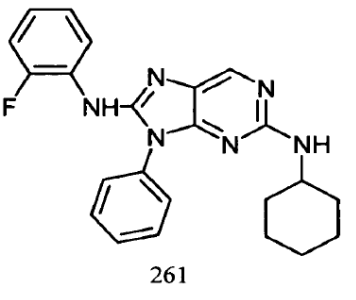
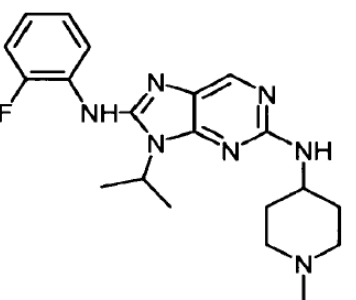
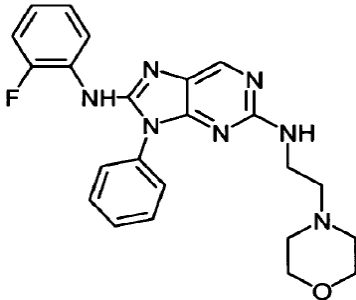
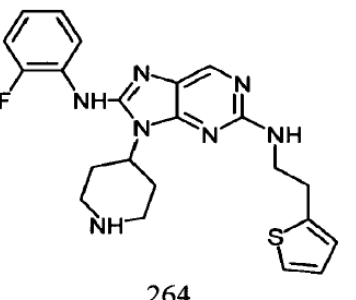
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>221</p>	395,15 (4.87/E)	 <p>222</p>	391,1 (3.87/E)
 <p>223</p>	392,4 (8.12/F)	 <p>224</p>	396,5 (2.32/E)
 <p>225</p>	404,45 (2.71/E)	 <p>226</p>	391,4 (11.67/F)
 <p>227</p>	405,2 (4.02/E)	 <p>228</p>	404,4 (8.42/F)
 <p>229</p>	439,1 (4.37/E)	 <p>230</p>	422,15 (2.82/E)

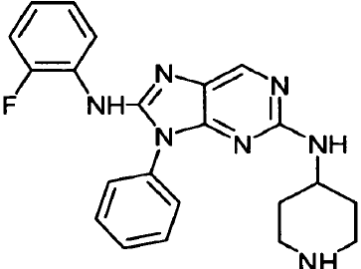
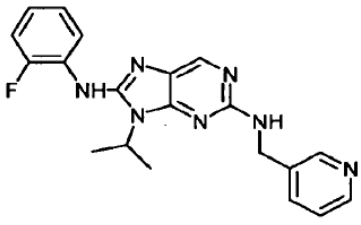
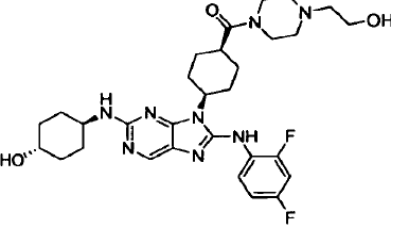
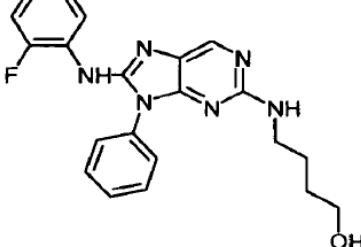
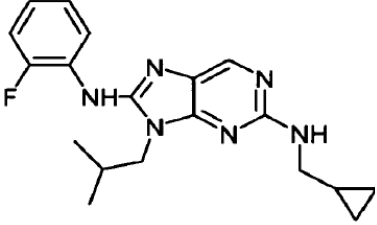
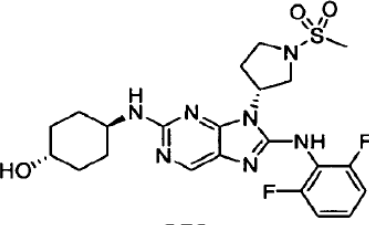
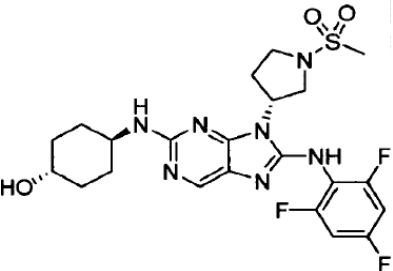
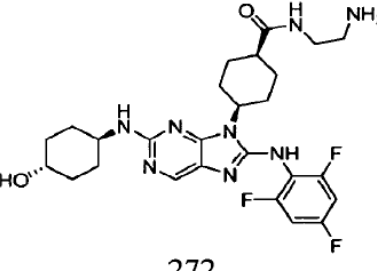
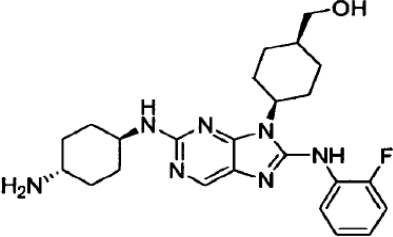
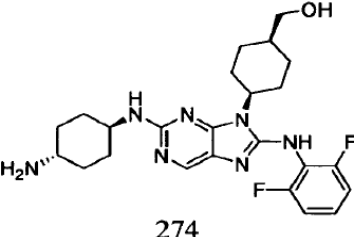
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>231</p>	431,5 (4.27/E)	 <p>232</p>	412,1 (3.08/E)
 <p>233</p>	446,15 (2.68/E)	 <p>234</p>	365,4 (8.85/F)
 <p>235</p>	410,15 (2.53/E)	 <p>236</p>	375,35 (3.76/E)
 <p>237</p>	359,15 (3.00/E)	 <p>238</p>	397,1 (3.82/E)

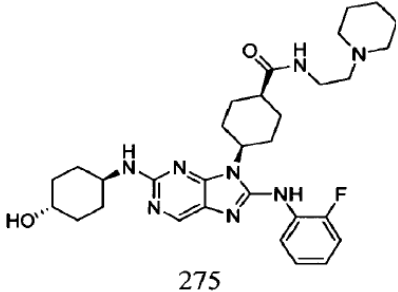
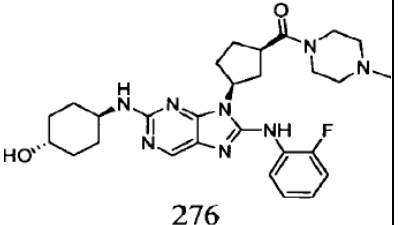
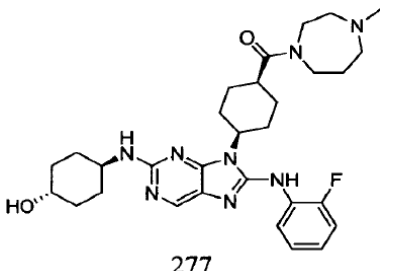
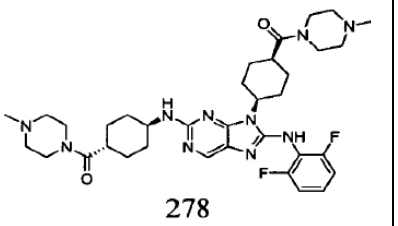
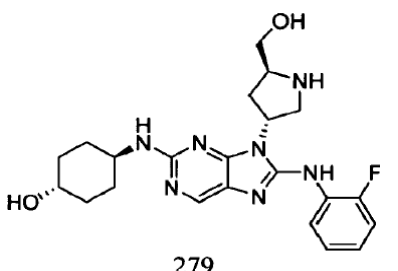
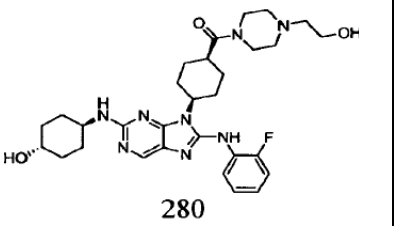
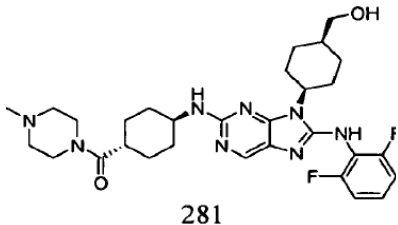
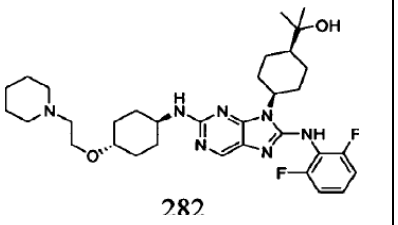
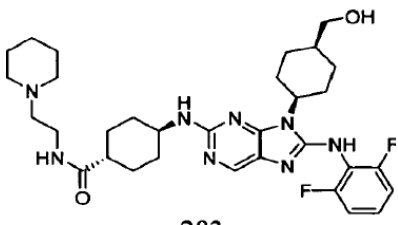
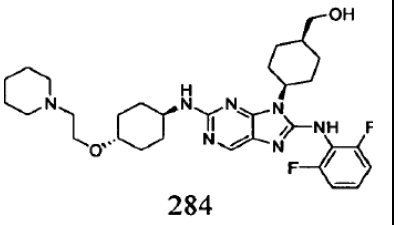
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>239</p>	431,5 (12.84/F)	 <p>240</p>	373,1 (3.21/E)
 <p>241</p>	345,4 (8.05/F)	 <p>242</p>	418,1 (2.64/E)
 <p>243</p>	411,4 (10.52/A)	 <p>244</p>	370,1 (2.30/E)
 <p>245</p>	359,4 (8.83/F)	 <p>246</p>	417,2 (4.14/E)

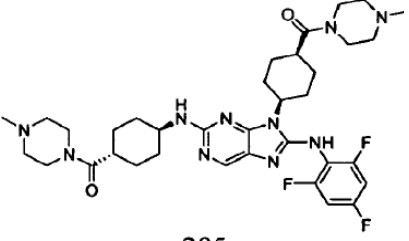
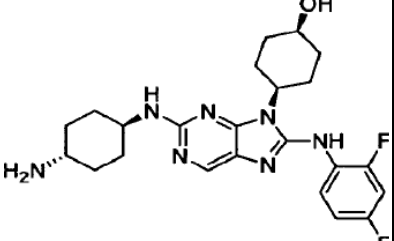
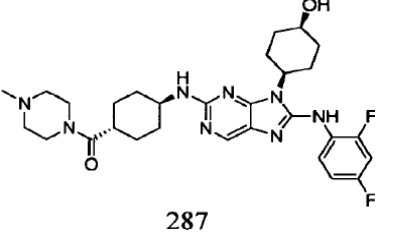
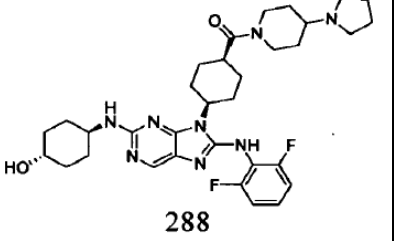
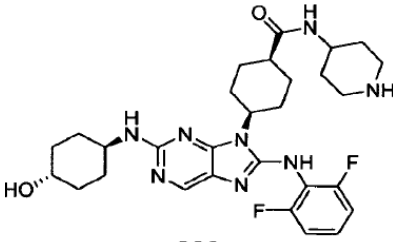
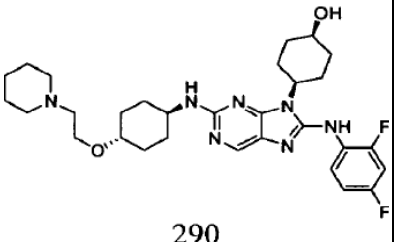
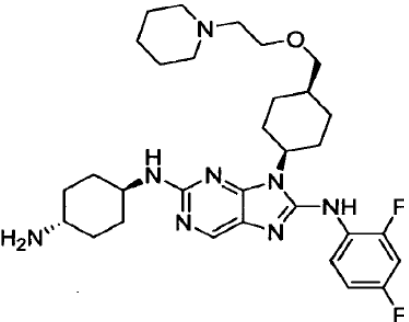
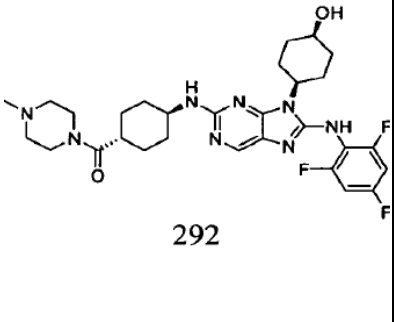
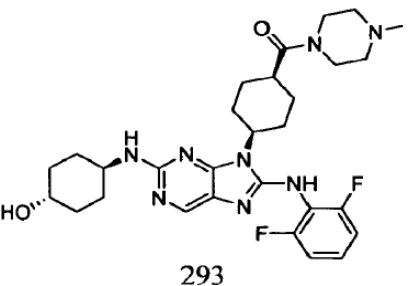
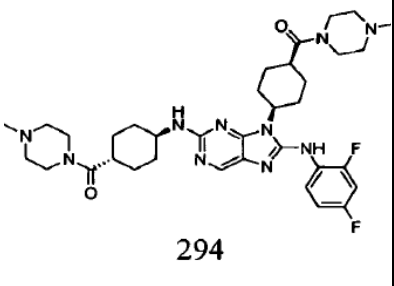
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>247</p>	384,2 (2.51/E)	 <p>248</p>	405,2 (4.07/E)
 <p>249</p>	379,4 (9.03/F)	 <p>250</p>	357 (11.41/F)
 <p>251</p>	400,1 (2.33/E)	 <p>252</p>	425,15 (4.25/E)
 <p>253</p>	369,5 (3.86/E)	 <p>254</p>	432,2 (2.54/E)

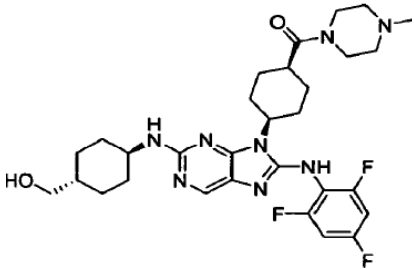
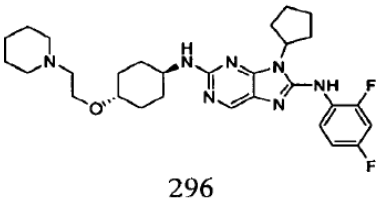
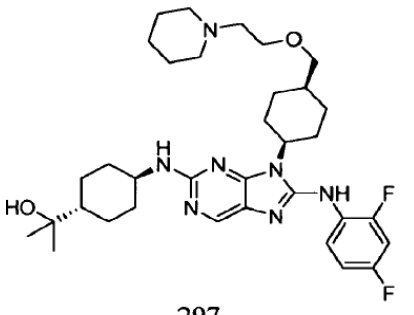
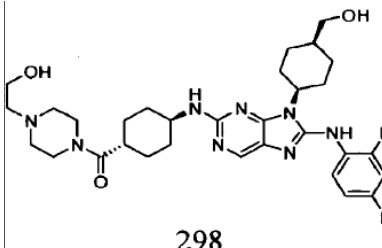
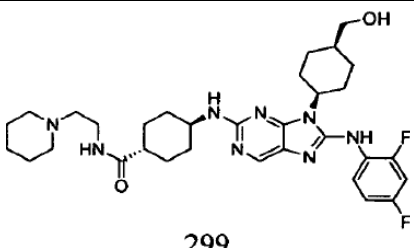
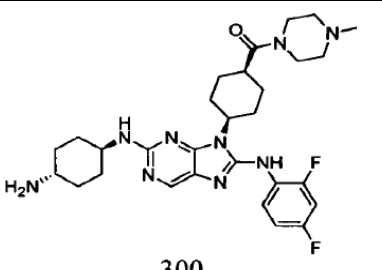
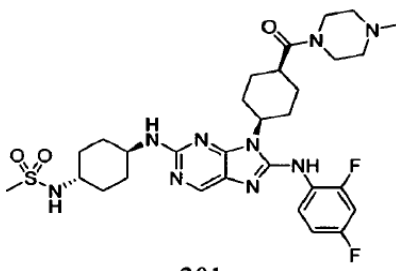
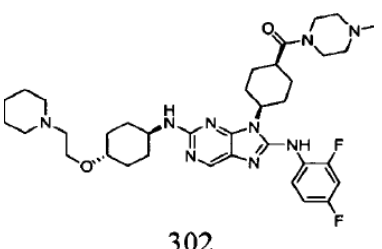
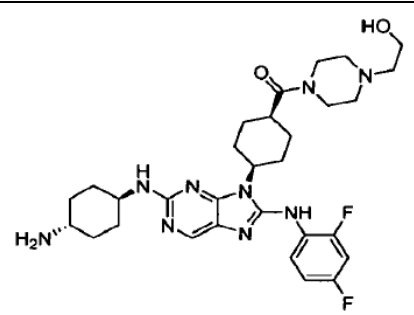
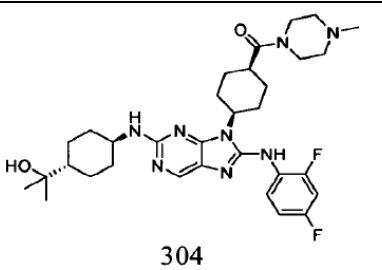


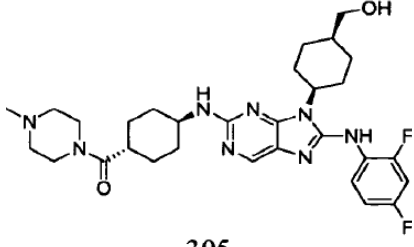
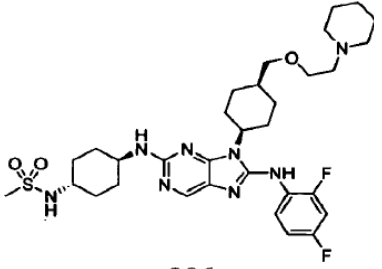
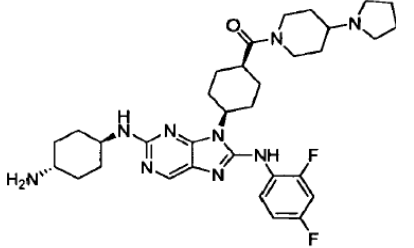
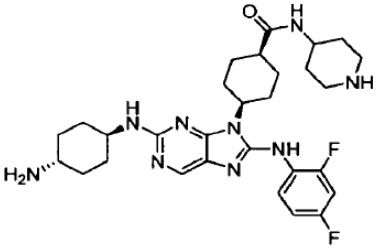
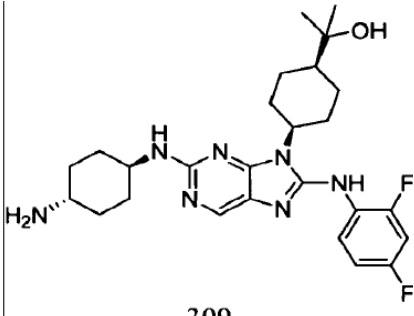
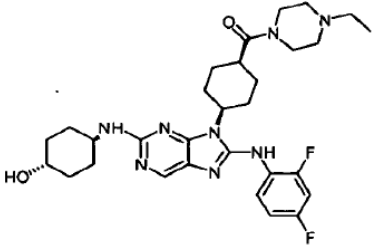
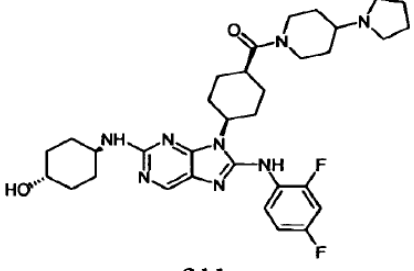
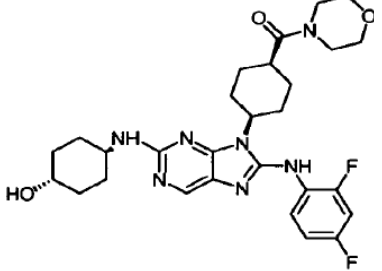
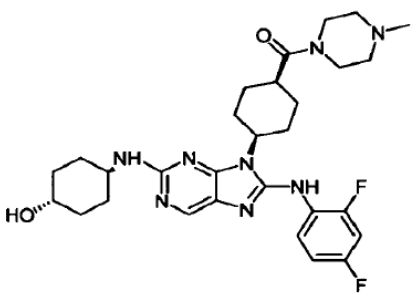
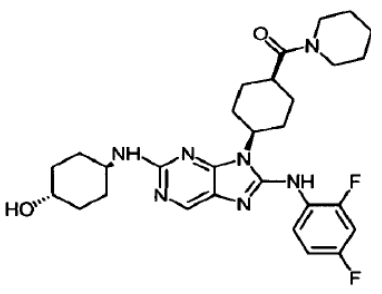
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>255</p>	414,2 (2.55/E)	 <p>256</p>	385,4 (9.83/F)
 <p>257</p>	389,45 (3.97/E)	 <p>258</p>	419,15 (4.19/E)
 <p>259</p>	423,05 (4.09/E)	 <p>260</p>	426,9 (6.84/F)
 <p>261</p>	403,4 (4.18/E)	 <p>262</p>	384,2 (2.32/E)
 <p>263</p>	434,15 (2.67/E)	 <p>264</p>	438,05 (2.49/E)

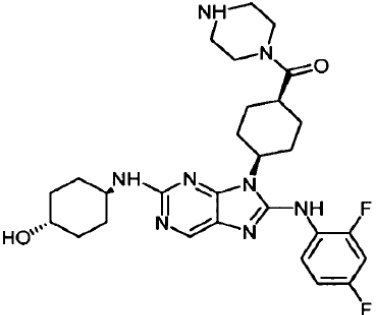
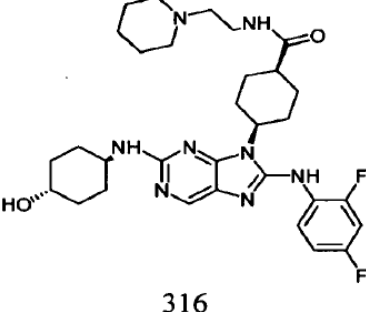
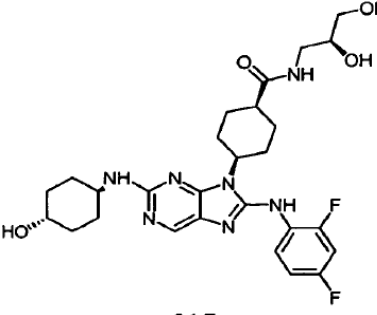
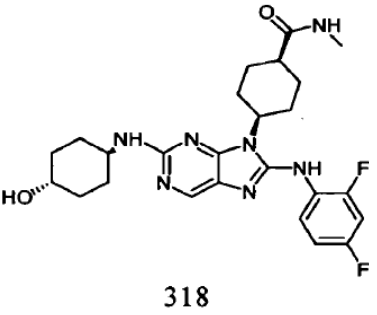
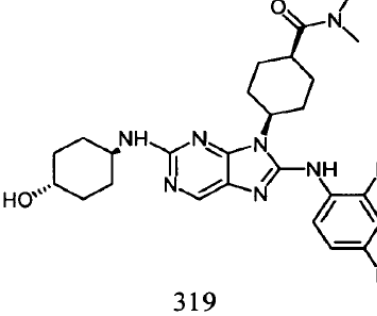
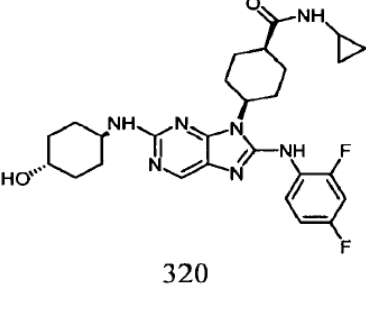
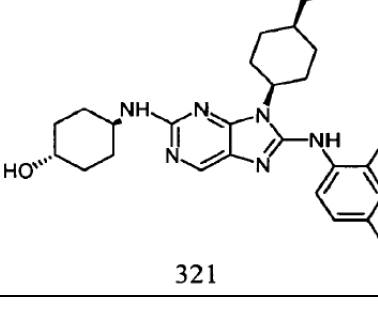
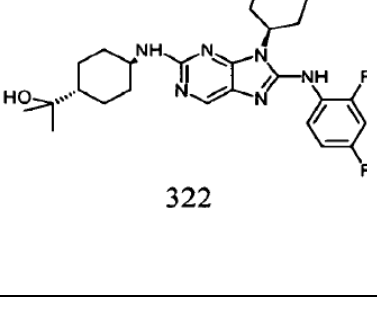
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>265</p>	404,15 (2.61/E)	 <p>266</p>	378,4 (7.18/F)
 <p>267</p>	599,6 (10.05/C)	 <p>268</p>	393,5 (3.25/E)
 <p>269</p>	508 (9.467/A)	 <p>270</p>	508 (9.433/A)
 <p>271</p>	526 (9.700/A)	 <p>272</p>	511,6 (9.77/C)
 <p>273</p>	454,5 (8.883/A)	 <p>274</p>	472,5 (10.150/C)

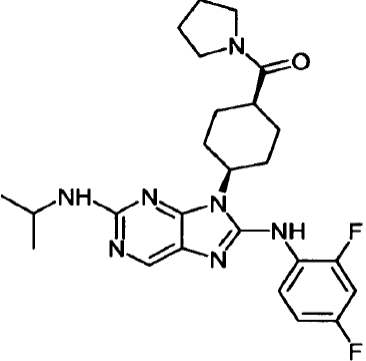
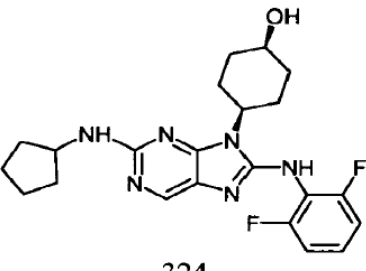
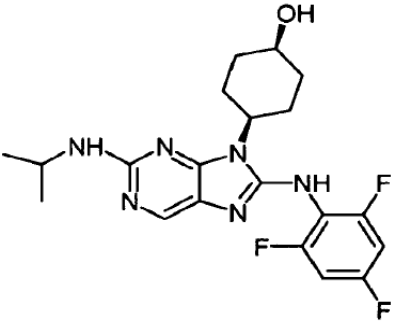
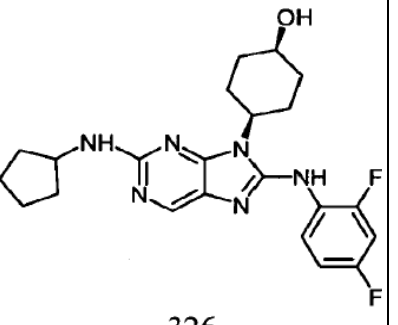
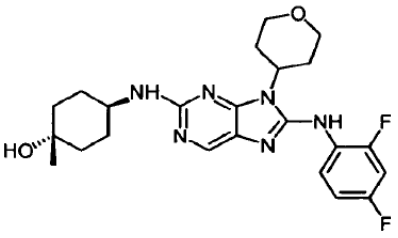
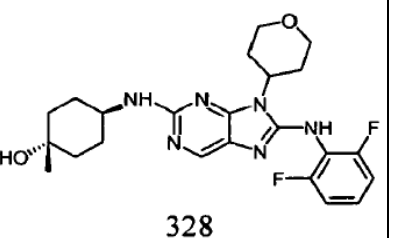
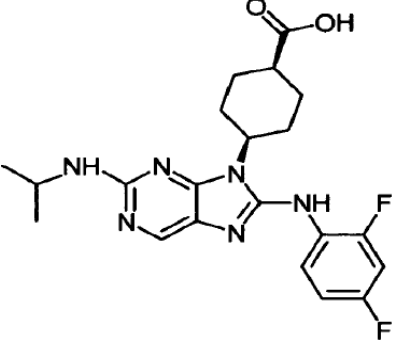
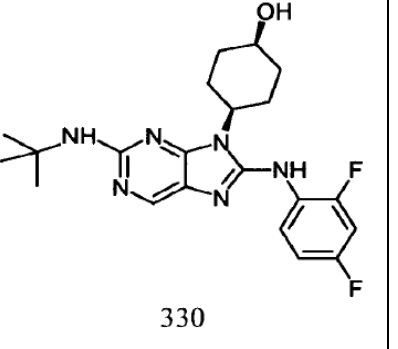
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>275</p>	565,8 (9.783/A)	 <p>276</p>	537,7 (8.417/A)
 <p>277</p>	565,6 (10.10/C)	 <p>278</p>	679 (9.367/A)
 <p>279</p>	442,5 (7.650/A)	 <p>280</p>	581,6 (10.95/C)
 <p>281</p>	583,5 (9.133/A)	 <p>282</p>	612,4 (10.0/A)
 <p>283</p>	612 (9.417/A)	 <p>284</p>	584,3 (9.6/A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>285</p>	697 (11.528/A)	 <p>286</p>	458 (9.933/A)
 <p>287</p>	569 (10.167/A)	 <p>288</p>	623,5 (8.97/A)
 <p>289</p>	569,7 (8.68/A)	 <p>290</p>	570,5 (10.50/A)
 <p>291</p>	583,8 (9.92/A)	 <p>292</p>	587 (10.217/A)
 <p>293</p>	569,8 (8.593/C)	 <p>294</p>	679 (9.600/A)

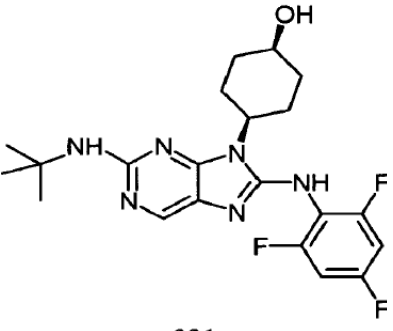
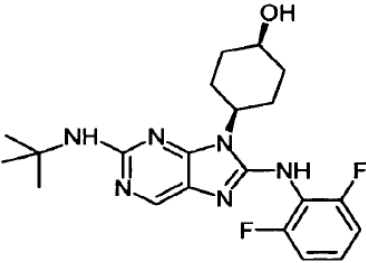
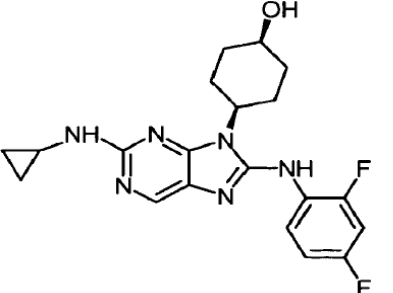
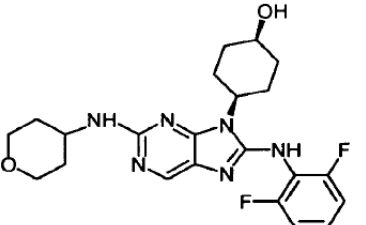
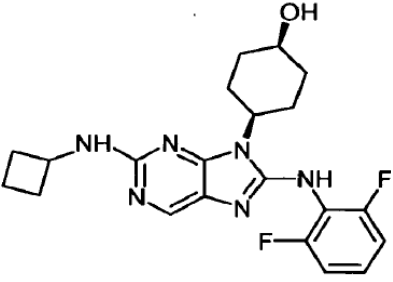
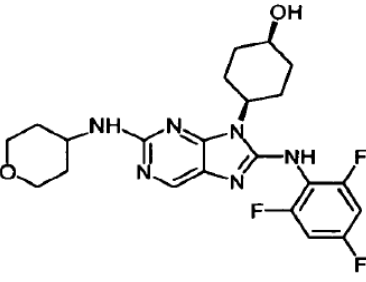
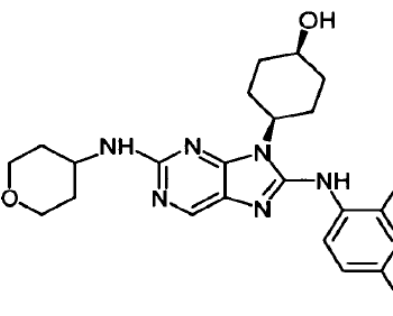
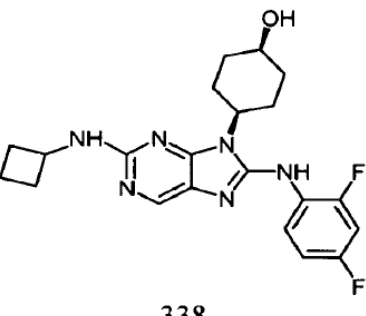
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>295</p>	601,8 (10.032/A)	 <p>296</p>	540,3 (10.1/A)
 <p>297</p>	626,7 (10.167/A)	 <p>298</p>	613,5 (10.83/C)
 <p>299</p>	611,8 (11.28/C)	 <p>300</p>	568,5 (9.32/A)
 <p>301</p>	646,3 (10.42/C)	 <p>302</p>	680,7 (8.75/A)
 <p>303</p>	598,7 (9.184/A)	 <p>304</p>	611,5 (10.360/A)

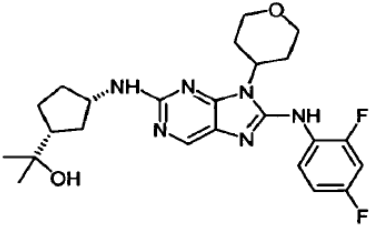
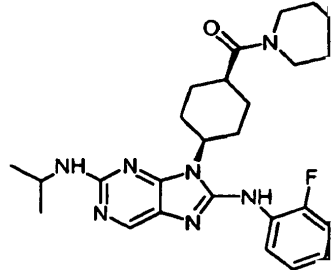
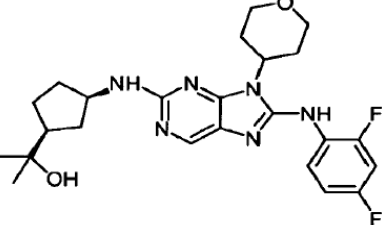
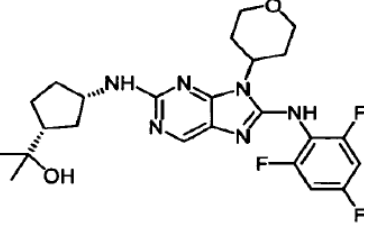
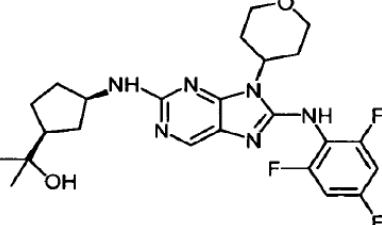
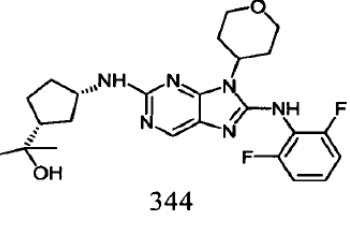
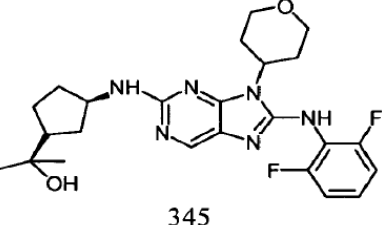
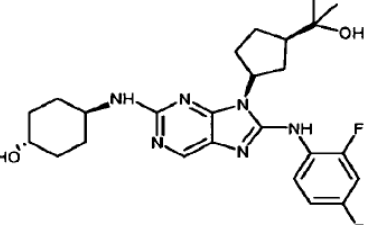
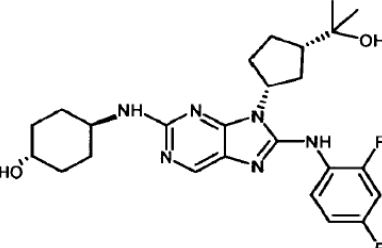
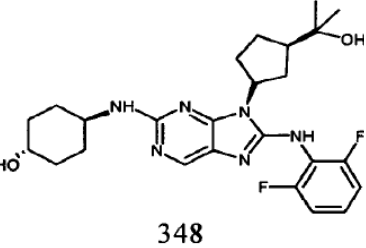
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>305</p>	583,5 (10.92/C)	 <p>306</p>	661,5 (11.65/C)
 <p>307</p>	622,7 (9.484/A)	 <p>308</p>	568,5 (9.256/A)
 <p>309</p>	500,4 (10.436/A)	 <p>310</p>	583,5 (C)
 <p>311</p>	623,8 (C)	 <p>312</p>	556,4 (C)
 <p>313</p>	583,7 (C)	 <p>314</p>	554,6 (C)

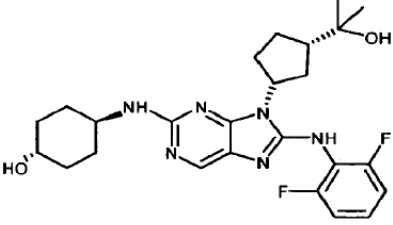
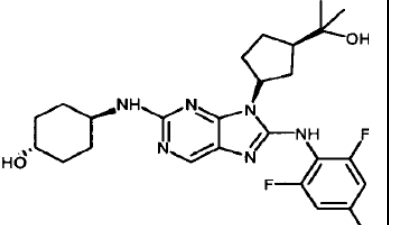
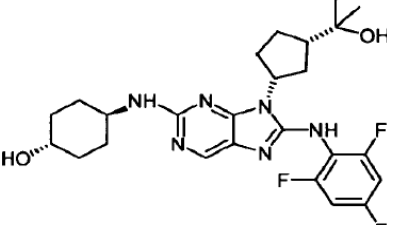
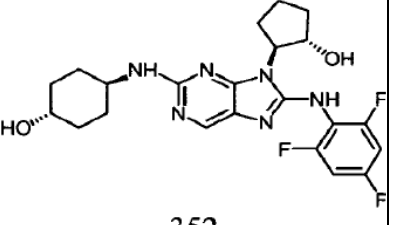
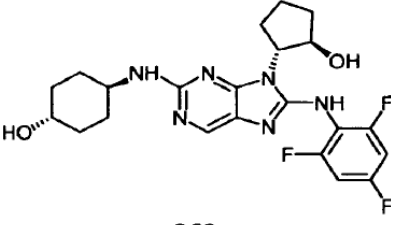
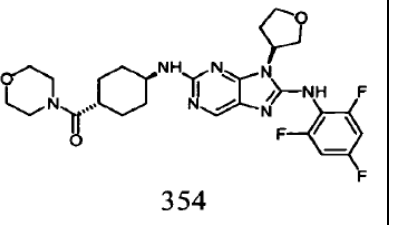
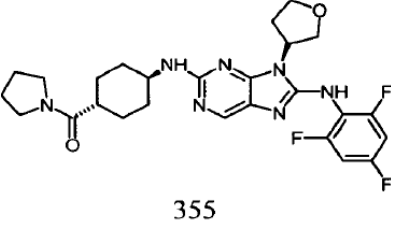
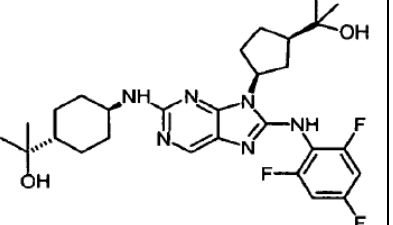
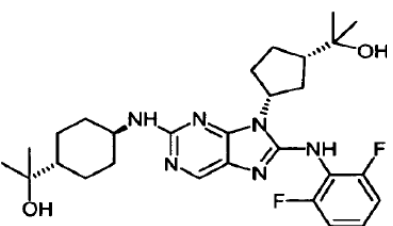
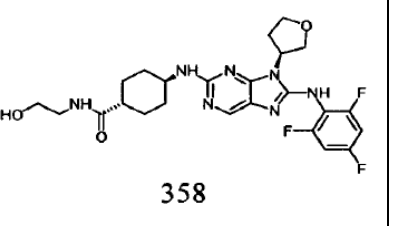
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>315</p>	555,5 (C)	 <p>316</p>	598,5 (A)
 <p>317</p>	560,5 (B)	 <p>318</p>	500,4 (B)
 <p>319</p>	514,5 (B)	 <p>320</p>	526,6 (B)
 <p>321</p>	487,1 (A)	 <p>322</p>	487,1 (A)

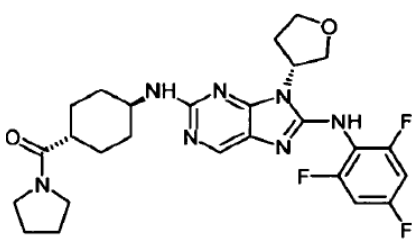
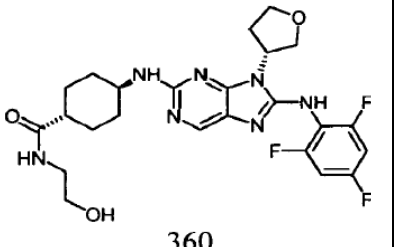
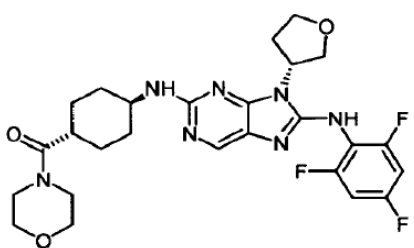
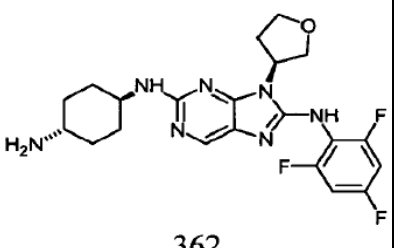
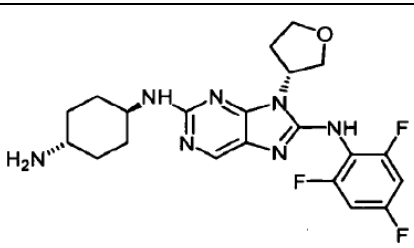
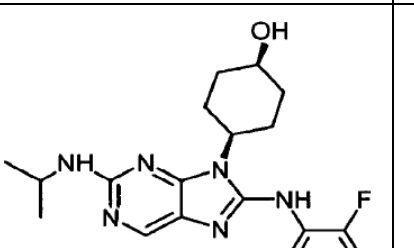
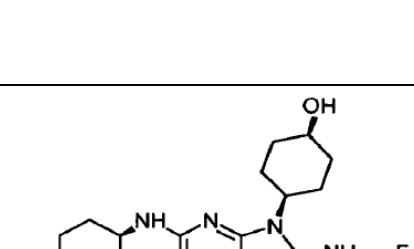
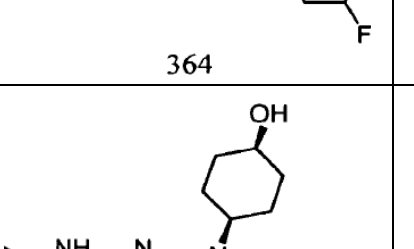
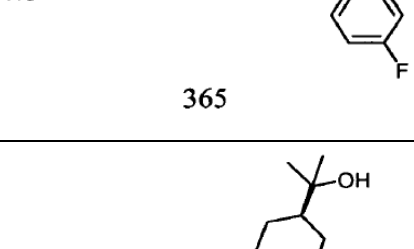
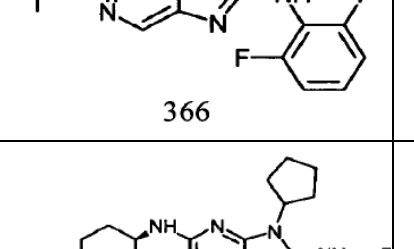
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>323</p>	485,6 (A)	 <p>324</p>	429,4 (B)
 <p>325</p>	421,4 (B)	 <p>326</p>	429,1 (B)
 <p>327</p>	458,9 (B)	 <p>328</p>	459,5 (B)
 <p>329</p>	431,3 (B)	 <p>330</p>	417,6 (B)

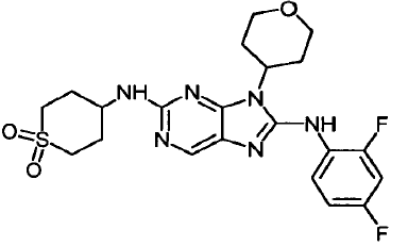
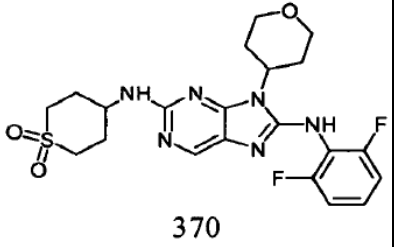
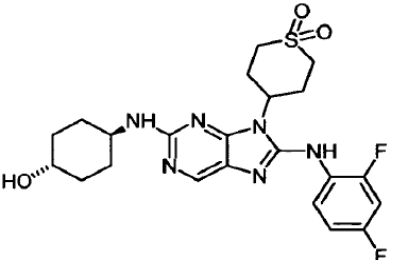
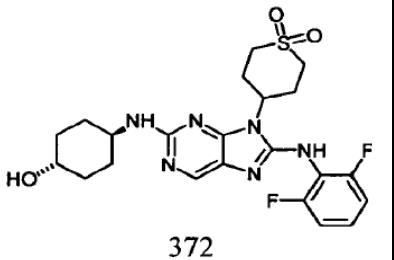
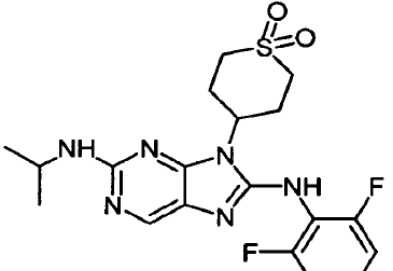
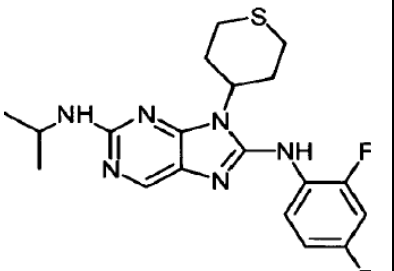
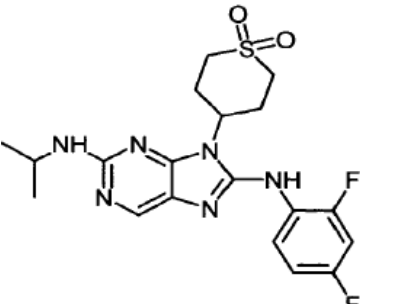
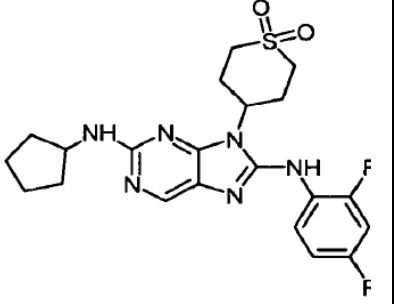


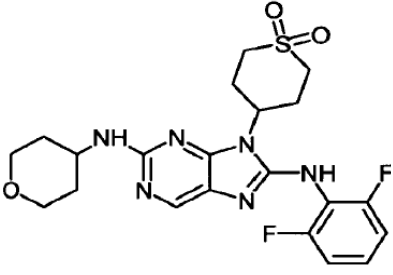
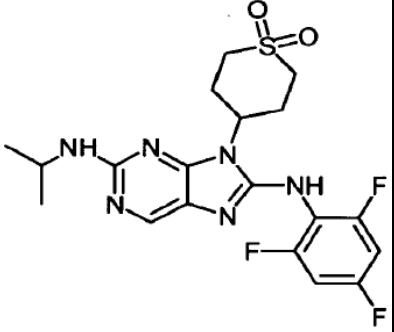
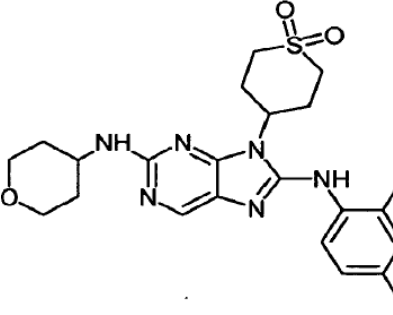
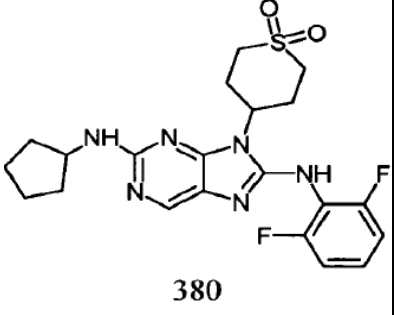
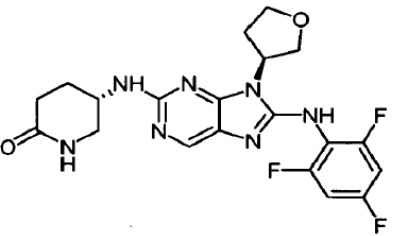
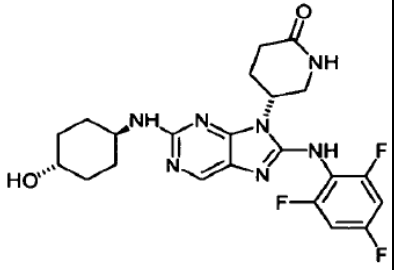
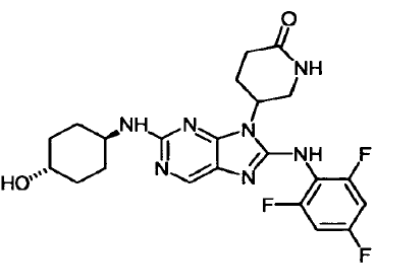
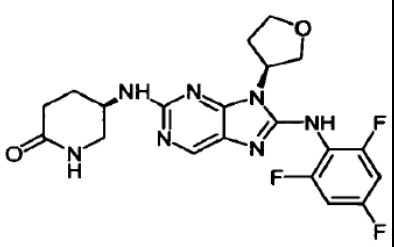
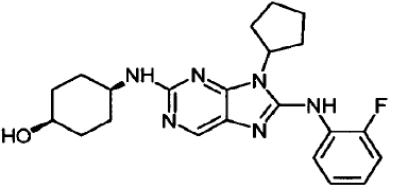
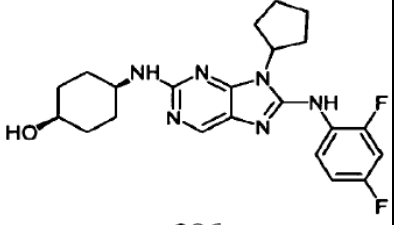
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>331</p>	435,3 (B)	 <p>332</p>	417,3 (B)
 <p>333</p>	401 (B)	 <p>334</p>	445 (A)
 <p>335</p>	414 (A)	 <p>336</p>	463 (A)
 <p>337</p>	445 (A)	 <p>338</p>	414 (A)

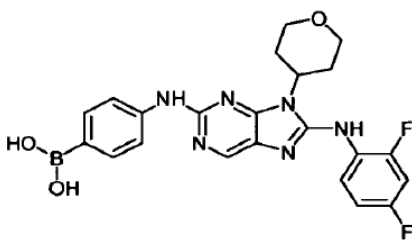
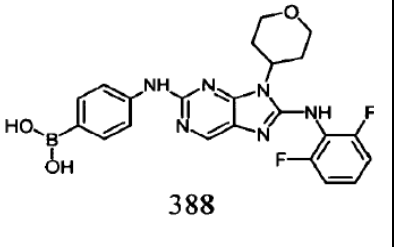
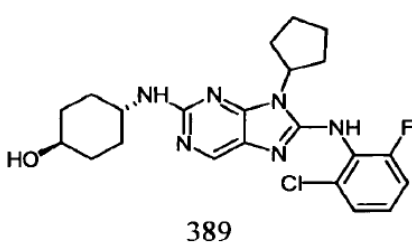
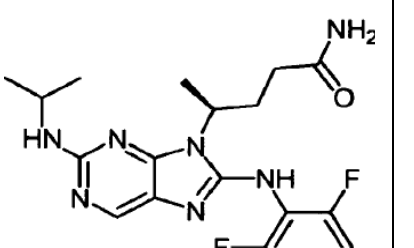
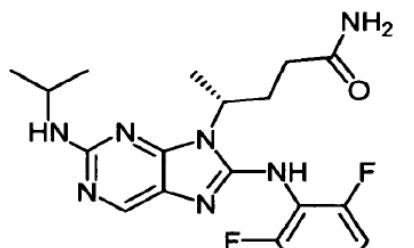
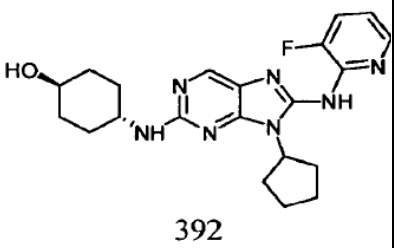
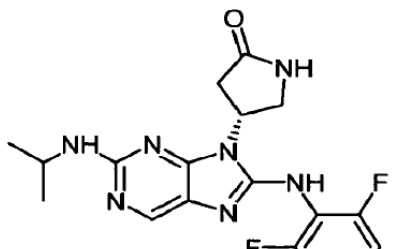
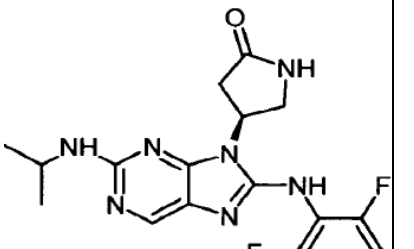
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>339</p>	473 (A)	 <p>340</p>	500,5 (A)
 <p>341</p>	473 (A)	 <p>342</p>	491 (A)
 <p>343</p>	491 (A)	 <p>344</p>	473 (A)
 <p>345</p>	473 (A)	 <p>346</p>	487 (A)
 <p>347</p>	487 (A)	 <p>348</p>	487 (A)

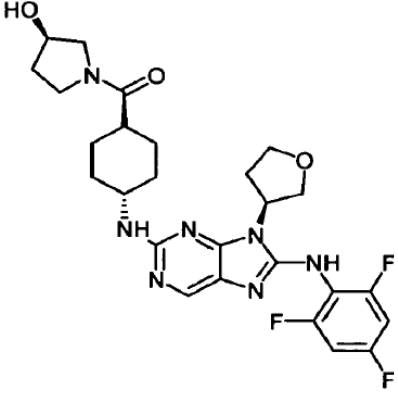
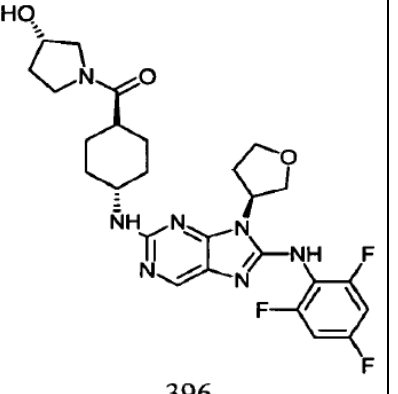
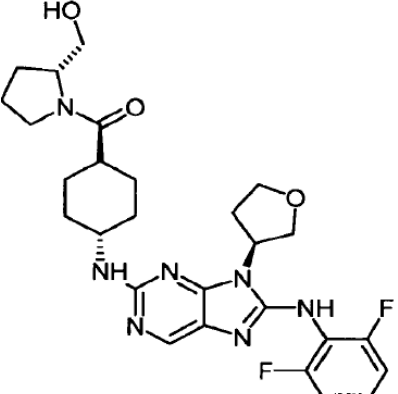
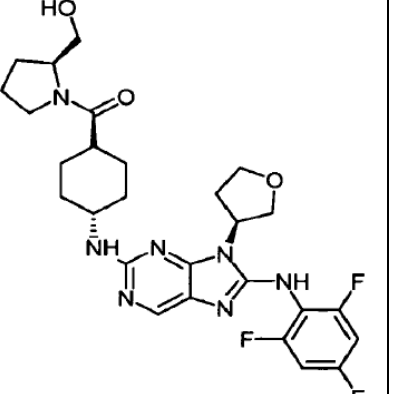
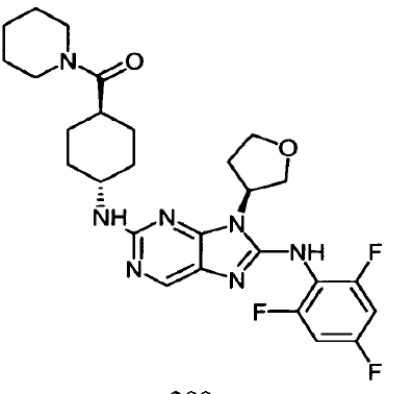
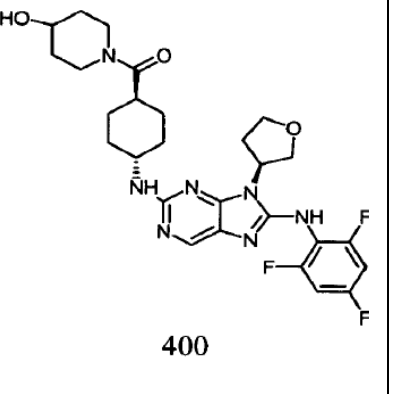
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>349</p>	487 (A)	 <p>350</p>	505 (A)
 <p>351</p>	505 (A)	 <p>352</p>	463 (A)
 <p>353</p>	463 (A)	 <p>354</p>	546 (A)
 <p>355</p>	530 (A)	 <p>356</p>	547 (A)
 <p>357</p>	547 (A)	 <p>358</p>	520 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>359</p>	560 (A)	 <p>360</p>	520 (A)
 <p>361</p>	546 (A)	 <p>362</p>	448 (A)
 <p>363</p>	448 (A)	 <p>364</p>	403,5 (B)
 <p>365</p>	459,6 (A)	 <p>366</p>	403,5 (A)
 <p>367</p>	501,6 (A)	 <p>368</p>	471,6 (A)

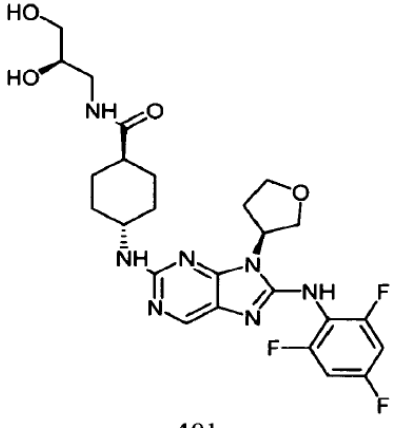
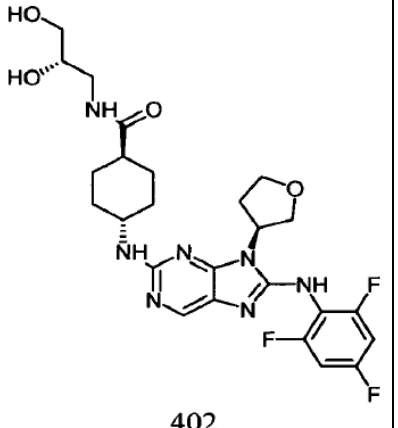
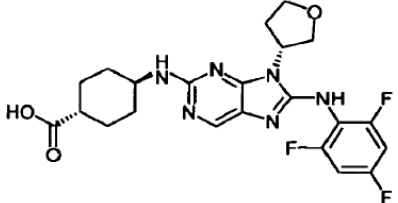
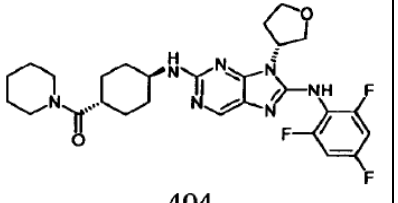
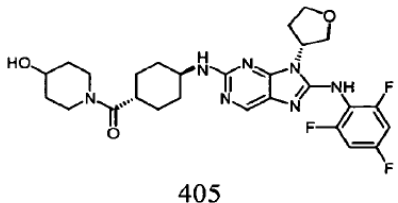
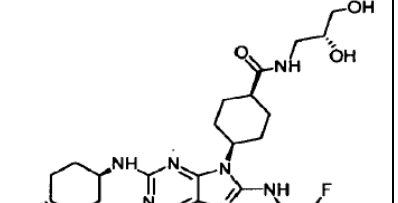
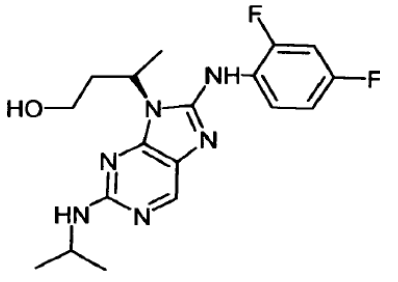
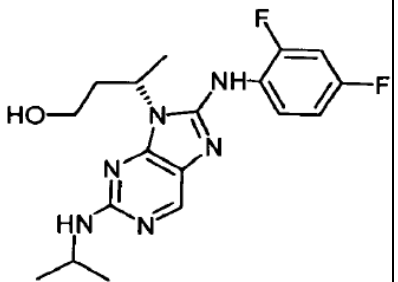
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>369</p>	479,4 (A)	 <p>370</p>	479,5 (A)
 <p>371</p>	493,5 (A)	 <p>372</p>	493,5 (A)
 <p>373</p>	437,4 (A)	 <p>374</p>	405,5 (A)
 <p>375</p>	437,4 (A)	 <p>376</p>	463,5 (A)

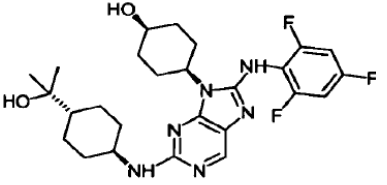
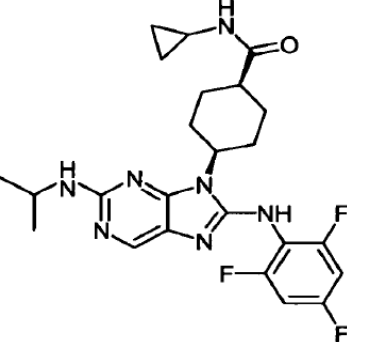
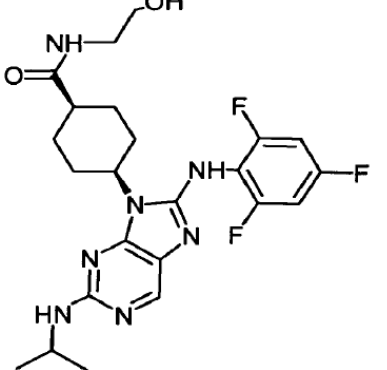
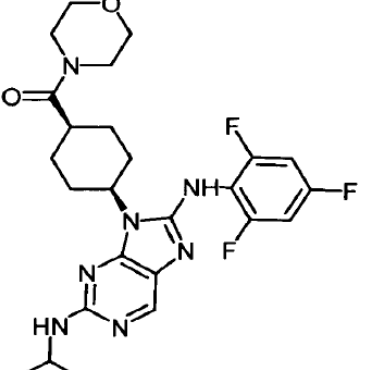
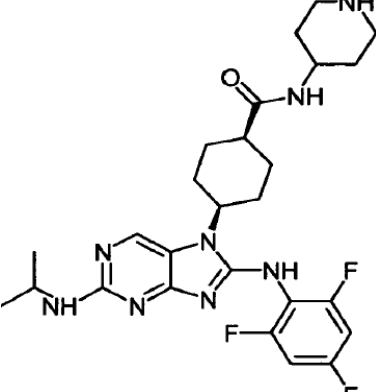
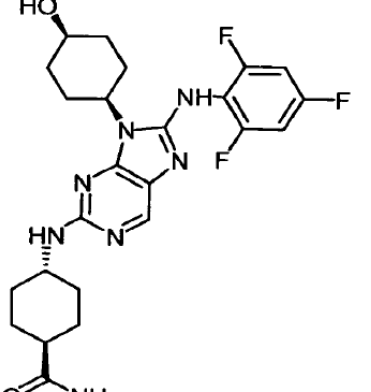
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>377</p>	479,4 (A)	 <p>378</p>	455,3 (A)
 <p>379</p>	479,4 (A)	 <p>380</p>	463,5 (A)
 <p>381</p>	448,3 (A)	 <p>382</p>	476,3 (A)
 <p>383</p>	476,4 (A)	 <p>384</p>	448,3 (A)
 <p>385</p>	411,3 (A)	 <p>386</p>	429,3 (A)

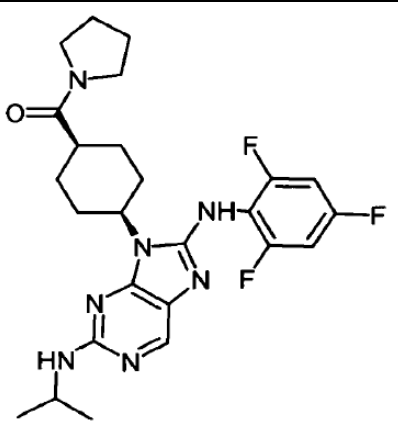
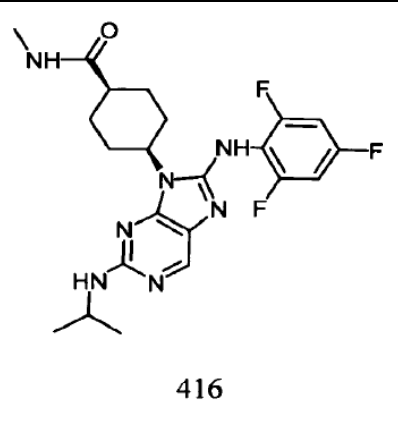
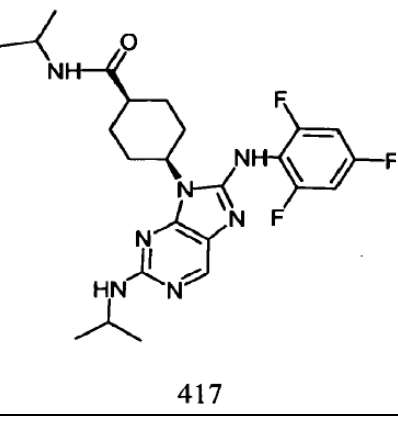
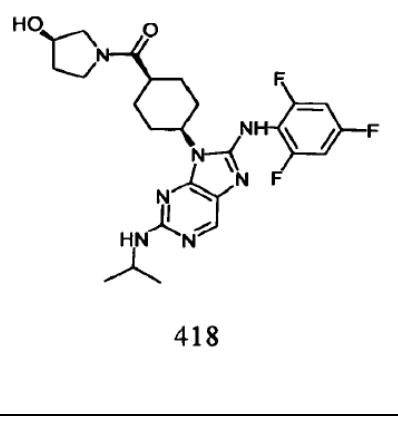
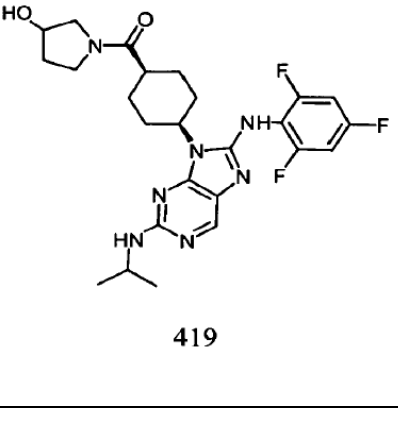
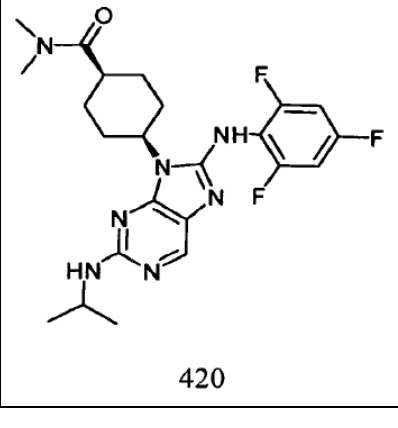
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>387</p>	467,5 (A)	 <p>388</p>	467,5 (A)
 <p>389</p>	445,5 (A)	 <p>390</p>	422,3 (A)
 <p>391</p>	422,3 (11.33/A)	 <p>392</p>	412,4 (A)
 <p>393</p>	406,5 (A)	 <p>394</p>	406,5 (A)

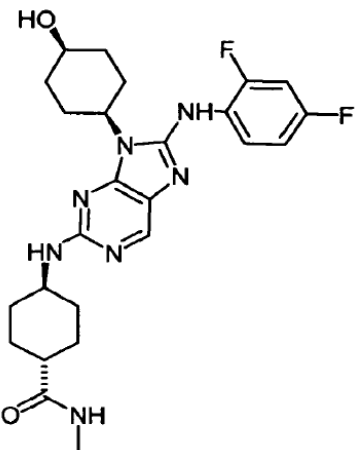
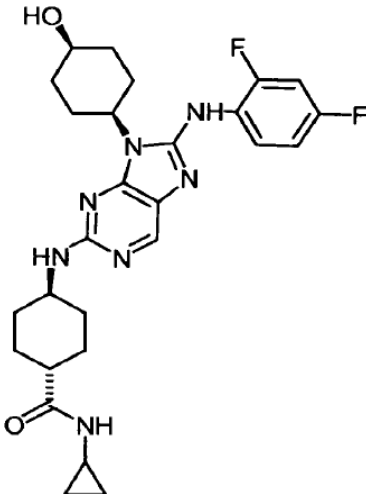
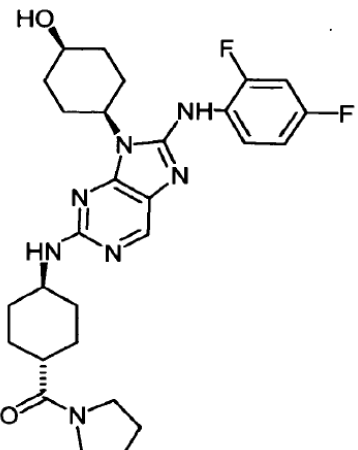
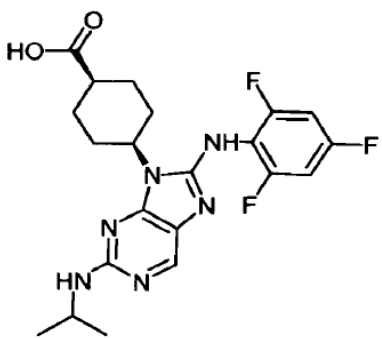
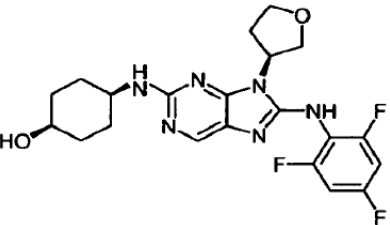
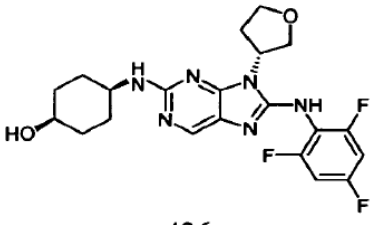
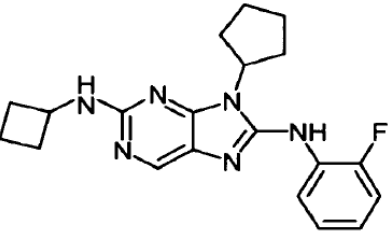
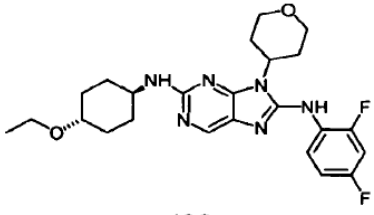
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>395</p>	546,3 (A)	 <p>396</p>	546,3 (A)
 <p>397</p>	560,5 (A)	 <p>398</p>	560,5 (A)
 <p>399</p>	544,4 (A)	 <p>400</p>	560,4 (A)

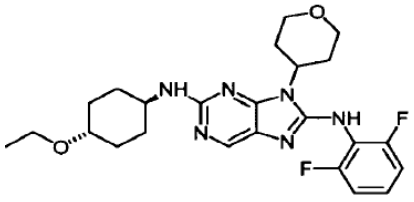
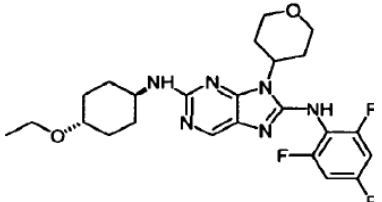
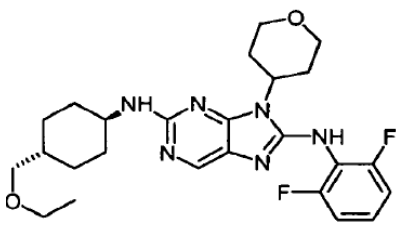
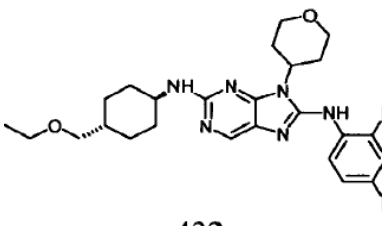
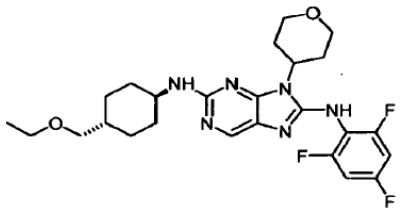
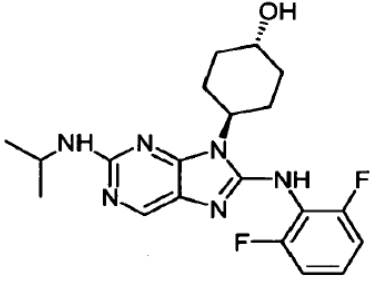
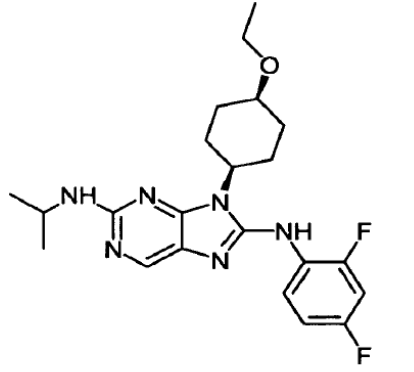
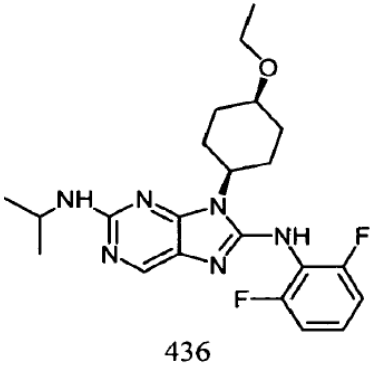


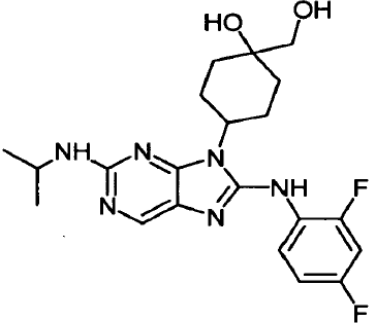
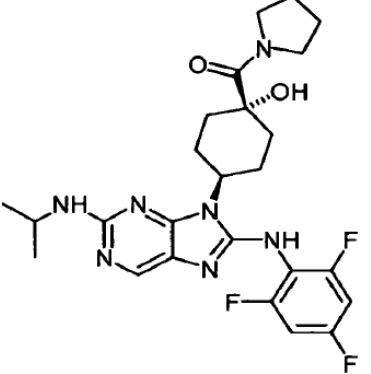
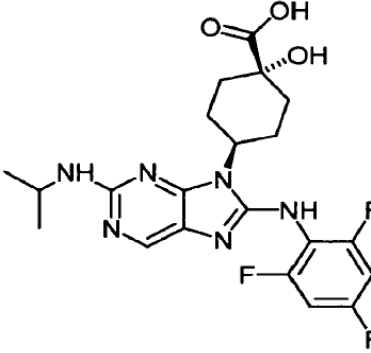
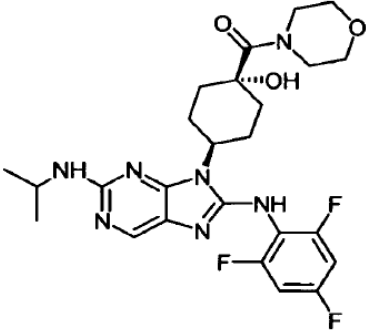
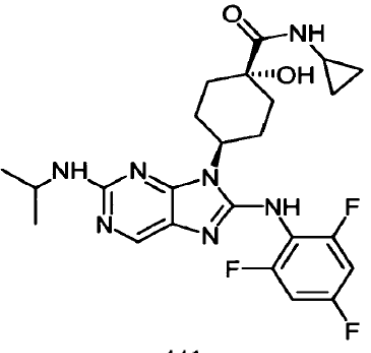
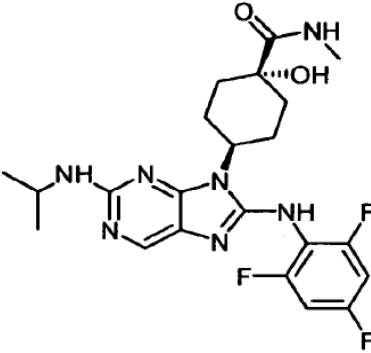
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>401</p>	550,5 (A)	 <p>402</p>	550,5 (A)
 <p>403</p>	477,3 (A)	 <p>404</p>	544,4 (A)
 <p>405</p>	560,5 (A)	 <p>406</p>	560,5 (A)
 <p>407</p>	377,1 (A)	 <p>408</p>	377 (A)

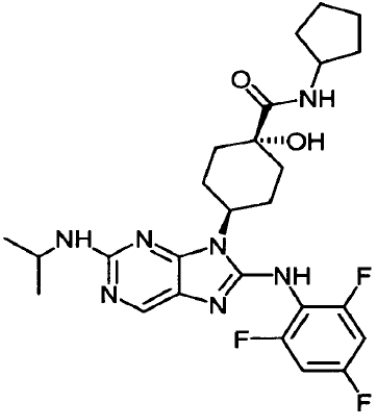
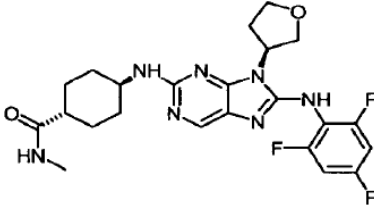
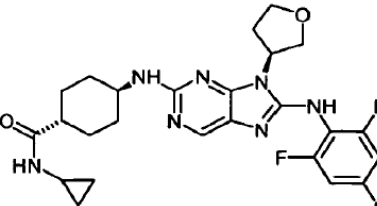
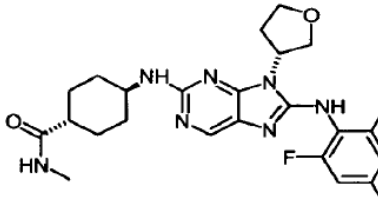
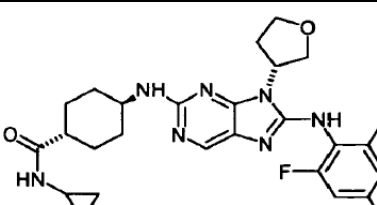
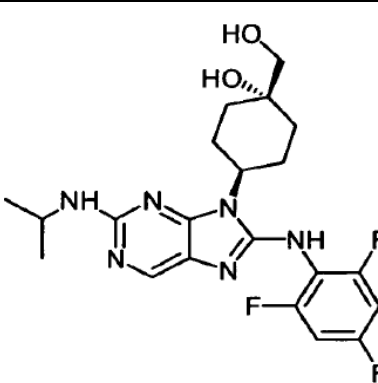
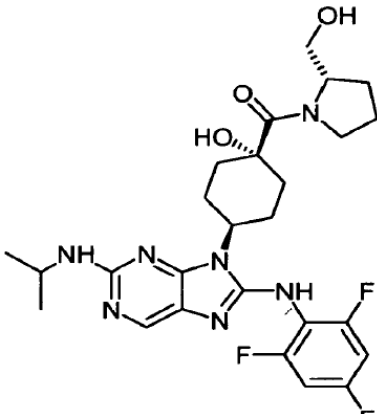
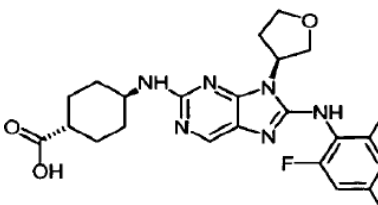
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p style="text-align: center;">409</p>	519,4 (B)	 <p style="text-align: center;">410</p>	488,5 (A)
 <p style="text-align: center;">411</p>	492,5 (A)	 <p style="text-align: center;">412</p>	418,5 (A)
 <p style="text-align: center;">413</p>	531,4 (A)	 <p style="text-align: center;">414</p>	504,5 (A)

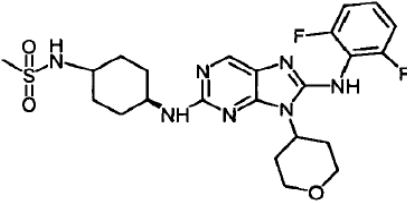
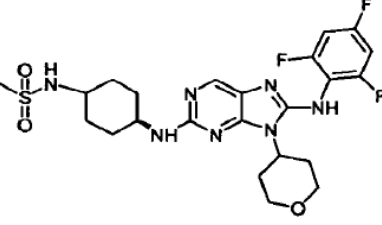
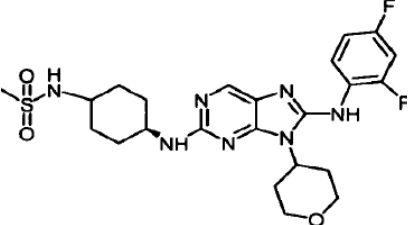
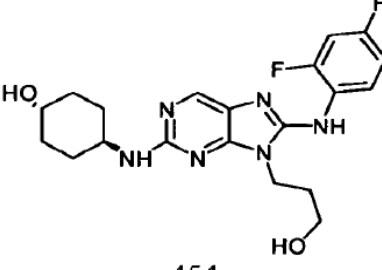
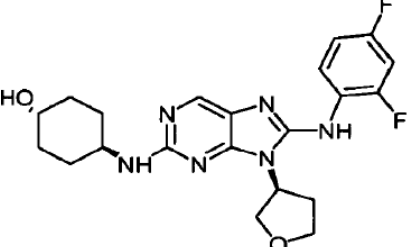
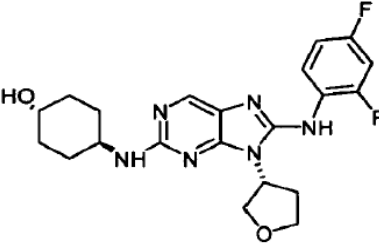
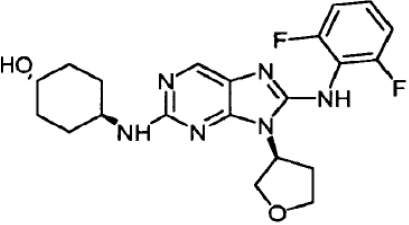
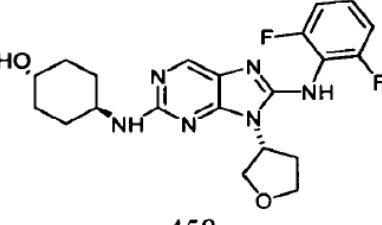
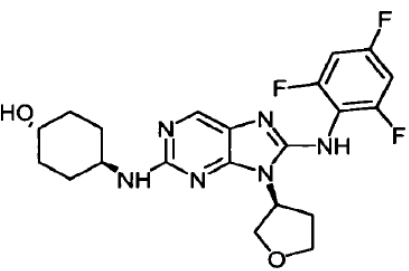
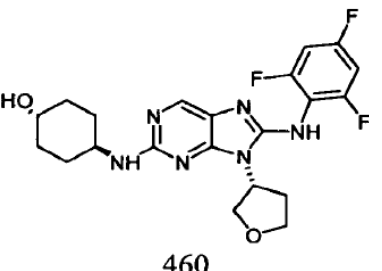
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>415</p>	502,5 (A)	 <p>416</p>	461,9 (A)
 <p>417</p>	490,1 (A)	 <p>418</p>	518,3 (A)
 <p>419</p>	518,3 (A)	 <p>420</p>	476,5 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>421</p>	500,4 (A)	 <p>422</p>	526,5 (A)
 <p>423</p>	540,5 (A)	 <p>424</p>	449,5 (A)
 <p>425</p>	449,3 (A)	 <p>426</p>	449,3 (A)
 <p>427</p>	367,3 (A)	 <p>428</p>	473 (A)

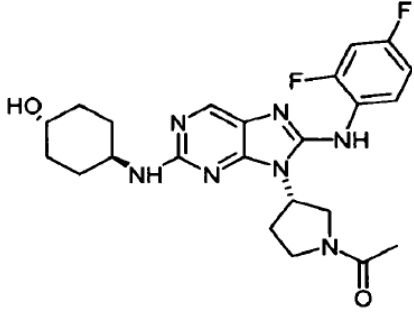
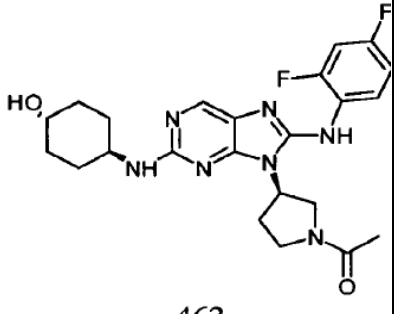
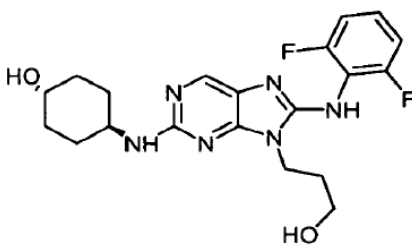
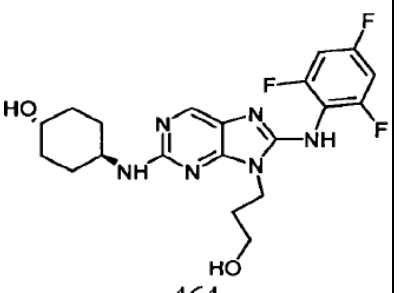
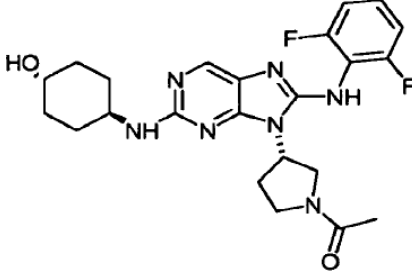
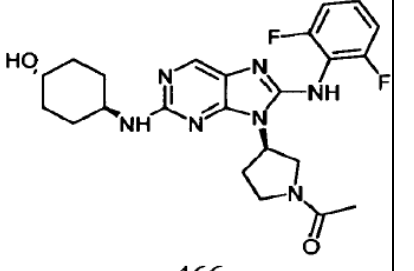
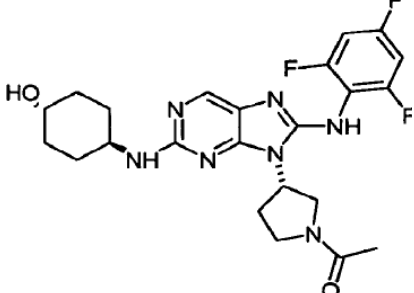
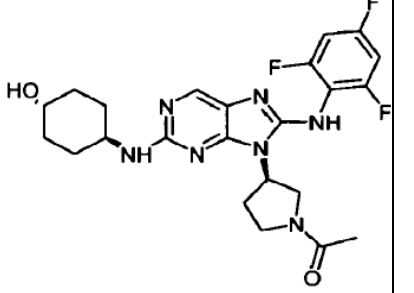
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>429</p>	473 (A)	 <p>430</p>	491 (A)
 <p>431</p>	487 (A)	 <p>432</p>	487 (A)
 <p>433</p>	505 (A)	 <p>434</p>	403 (A)
 <p>435</p>	431 (A)	 <p>436</p>	431 (A)

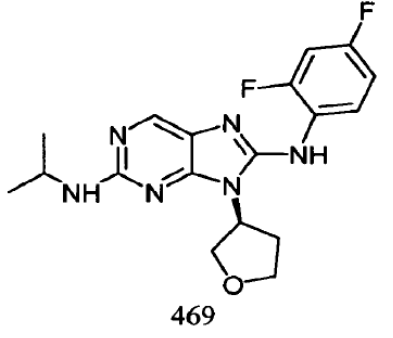
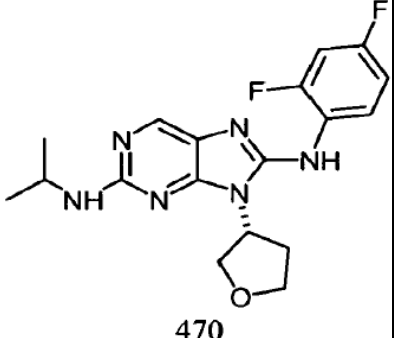
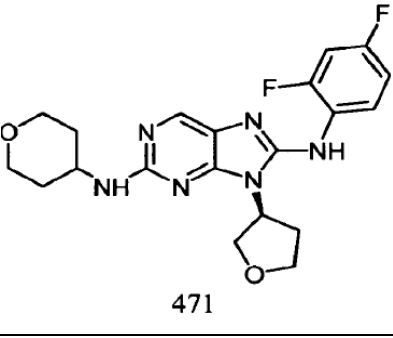
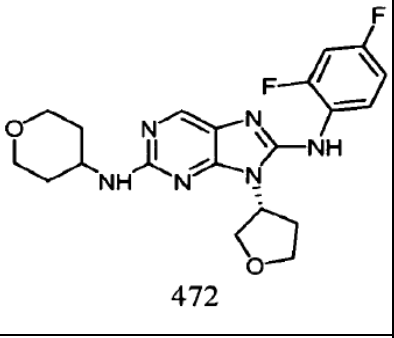
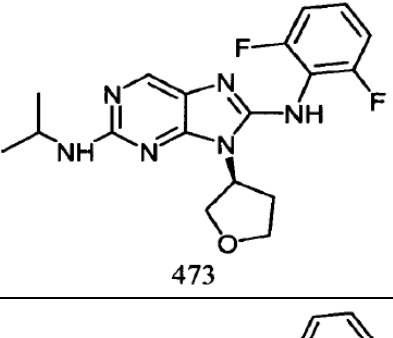
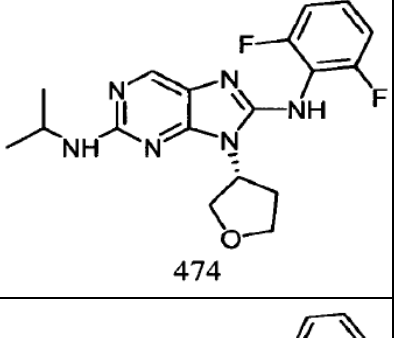
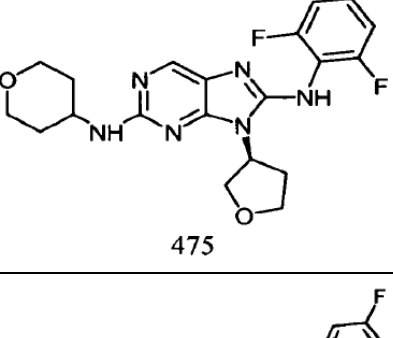
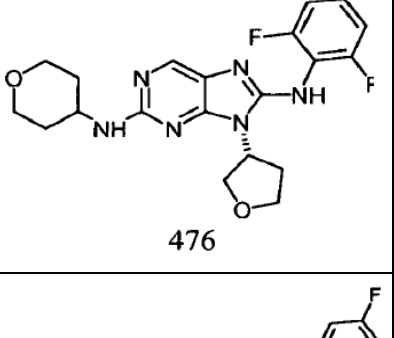
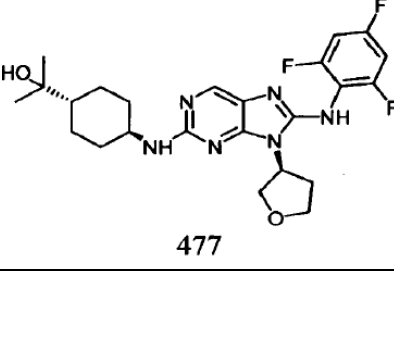
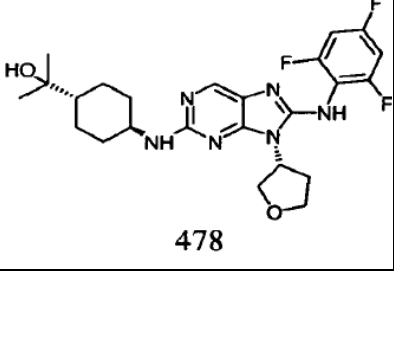
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>437</p>	433 (A)	 <p>438</p>	518 (B)
 <p>439</p>	465,1 (A)	 <p>440</p>	534 (A)
 <p>441</p>	504 (A)	 <p>442</p>	478 (A)

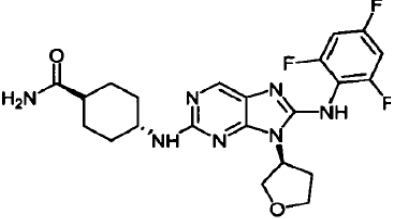
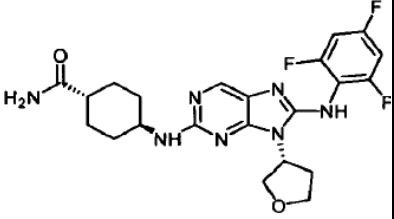
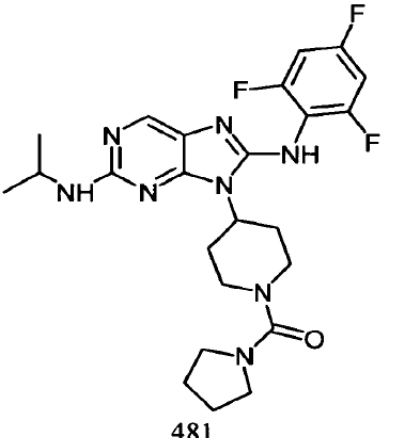
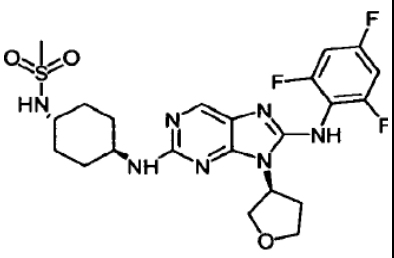
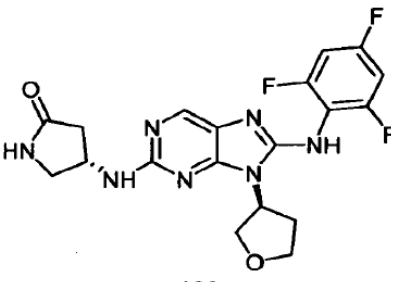
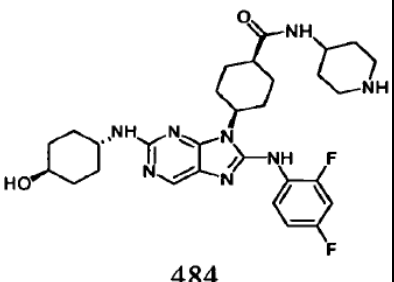
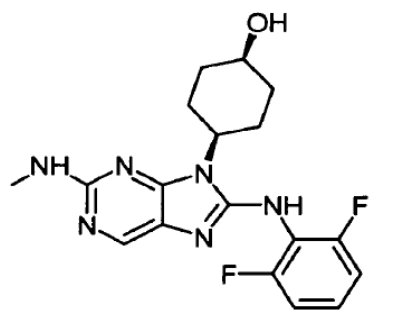
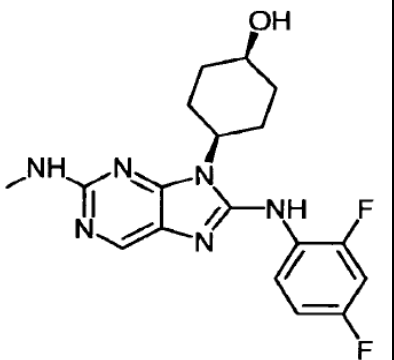
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>443</p>	532 (A)	 <p>444</p>	490 (A)
 <p>445</p>	516 (A)	 <p>446</p>	490 (A)
 <p>447</p>	516 (A)	 <p>448</p>	451 (A)
 <p>449</p>	548 (A)	 <p>450</p>	477 (B)

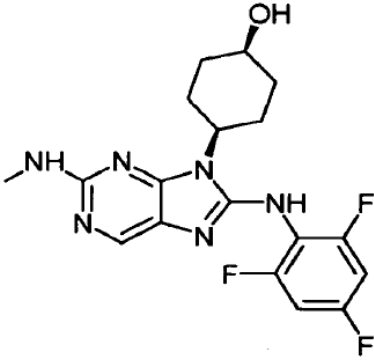
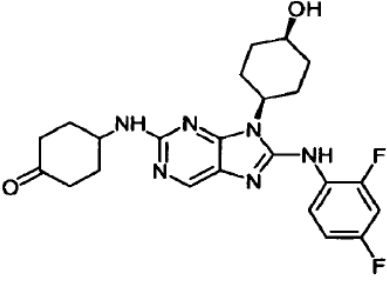
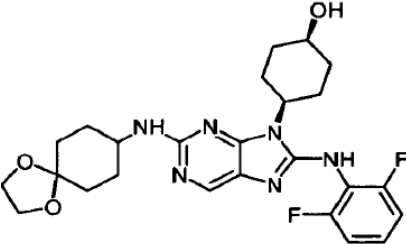
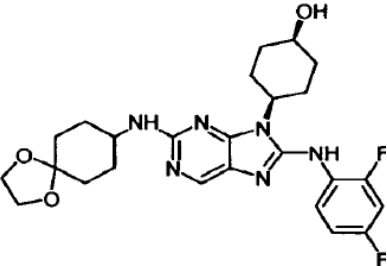
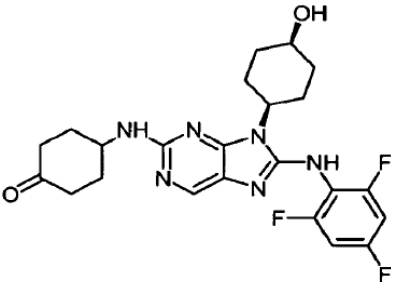
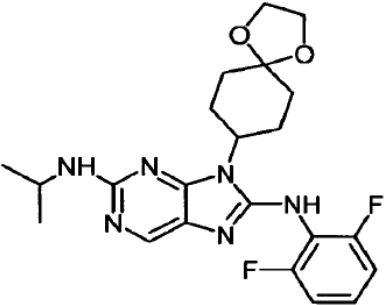
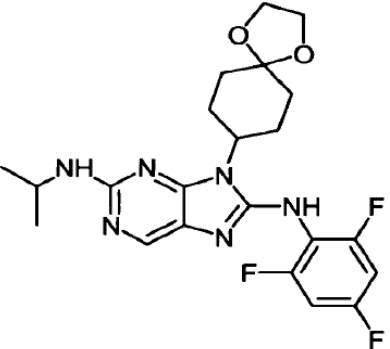
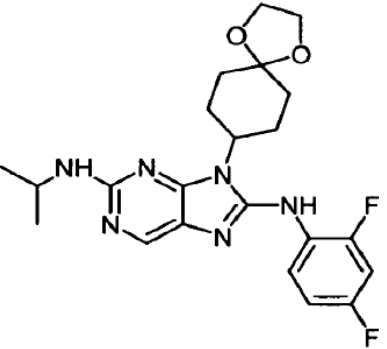
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>451</p>	522,5 (A)	 <p>452</p>	540,5 (A)
 <p>453</p>	522,5 (A)	 <p>454</p>	419,5 (A)
 <p>455</p>	431,5 (A)	 <p>456</p>	431,5 (A)
 <p>457</p>	431,5 (A)	 <p>458</p>	431,5 (A)
 <p>459</p>	449,4 (A)	 <p>460</p>	449,4 (A)

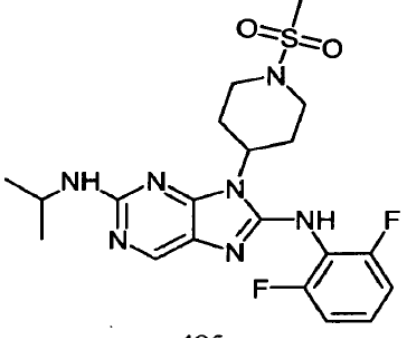
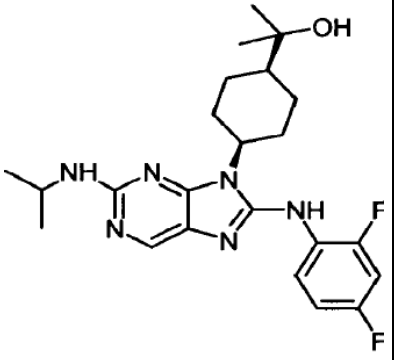
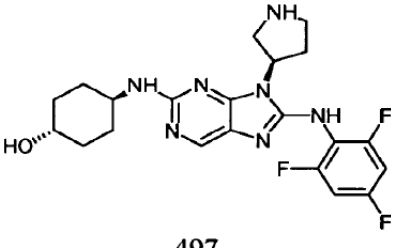
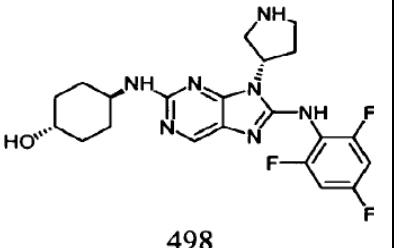
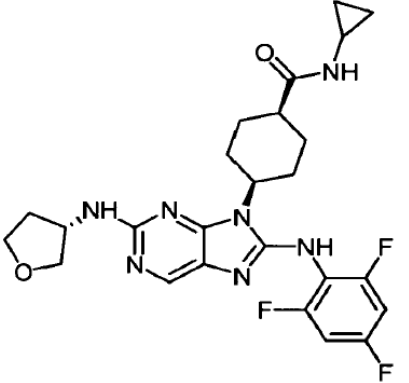
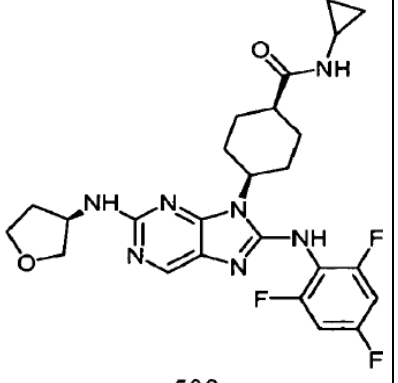
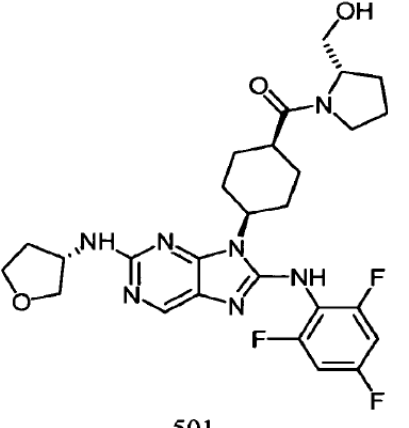
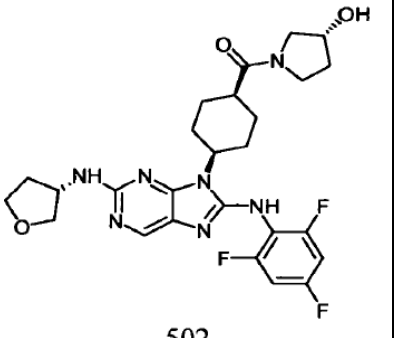


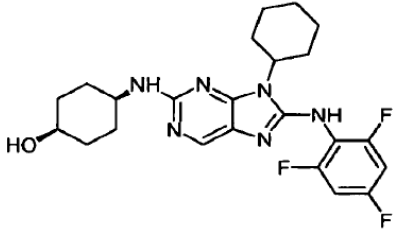
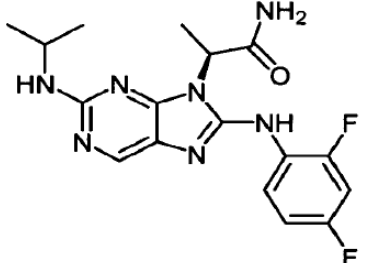
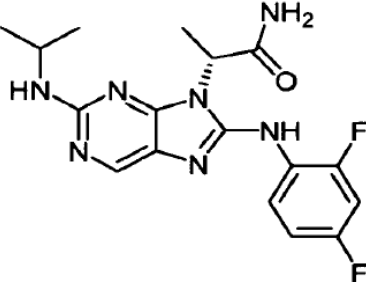
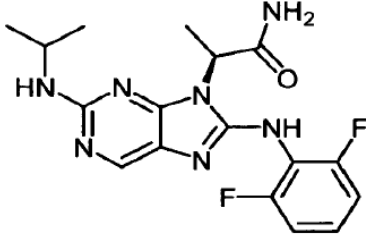
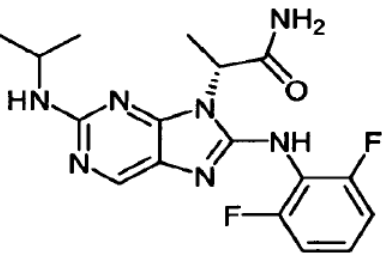
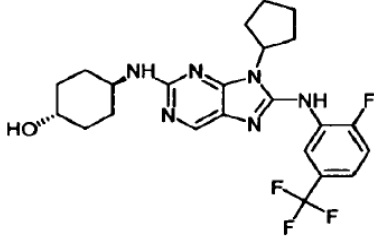
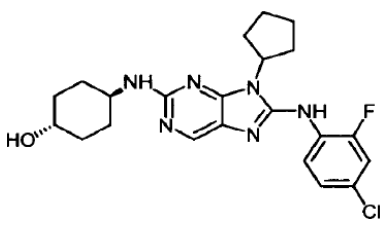
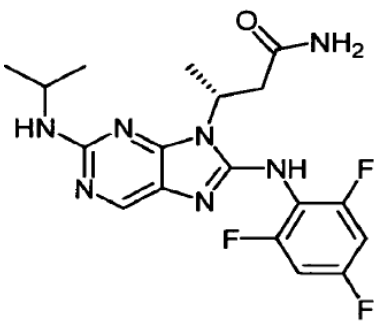
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>461</p>	472,5 (A)	 <p>462</p>	472,5 (A)
 <p>463</p>	419,5 (A)	 <p>464</p>	437,4 (A)
 <p>465</p>	472,5 (A)	 <p>466</p>	472,6 (A)
 <p>467</p>	490,5 (A)	 <p>468</p>	490,3 (A)

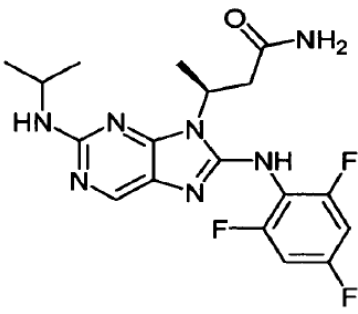
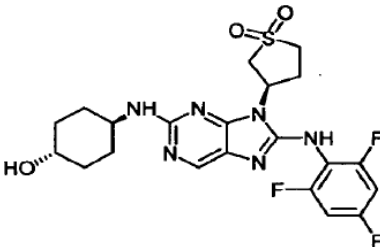
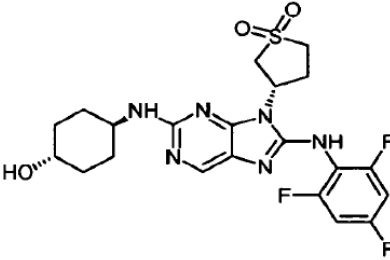
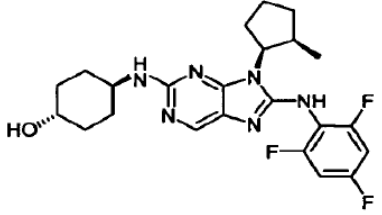
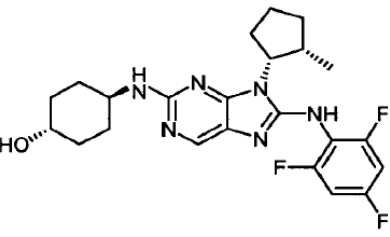
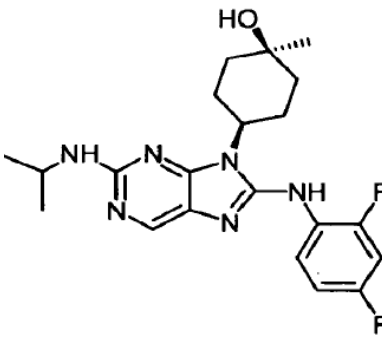
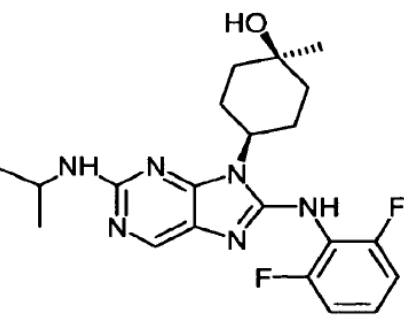
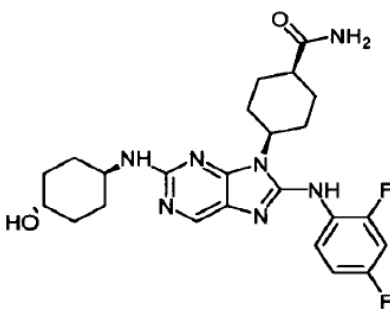
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>469</p>	375,3 (A)	 <p>470</p>	375,3 (A)
 <p>471</p>	417,5 (A)	 <p>472</p>	417,5 (A)
 <p>473</p>	417 (A)	 <p>474</p>	417,5 (A)
 <p>475</p>	417 (A)	 <p>476</p>	417,5 (A)
 <p>477</p>	491,5 (A)	 <p>478</p>	491,5 (B)

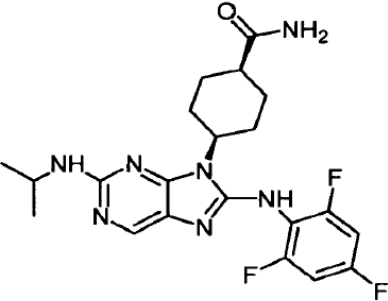
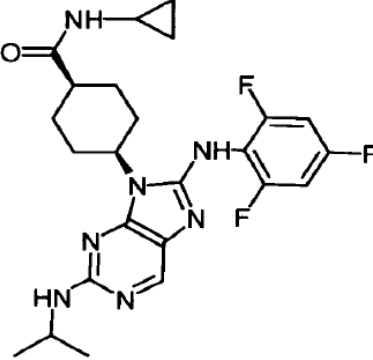
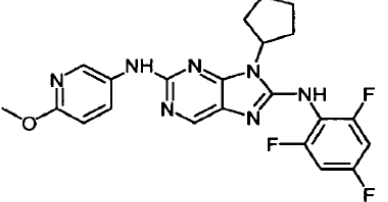
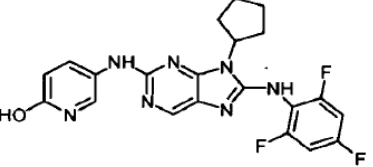
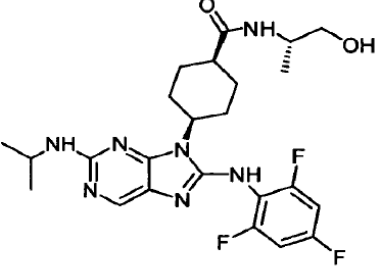
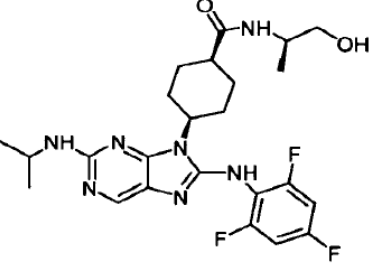
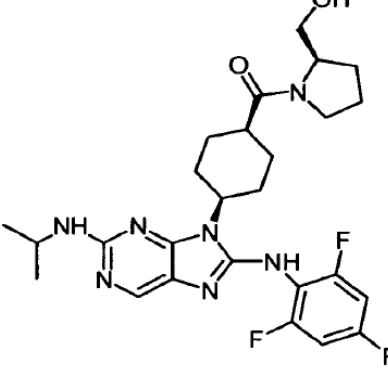
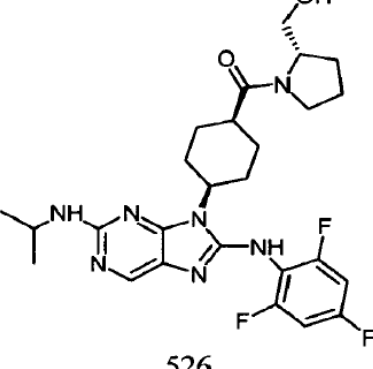
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>479</p>	476,4 (A)	 <p>480</p>	476,4 (A)
 <p>481</p>	503,3 (A)	 <p>482</p>	526,3 (A)
 <p>483</p>	434,1 (A)	 <p>484</p>	569,7 (A)
 <p>485</p>	375 (B)	 <p>486</p>	375,3 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>487</p>	393,1 (A)	 <p>488</p>	457,1 (A)
 <p>489</p>	501,5 (A)	 <p>490</p>	501,4 (A)
 <p>491</p>	476,5 (A)	 <p>492</p>	445,5 (A)
 <p>493</p>	463,4 (A)	 <p>494</p>	445 (A)

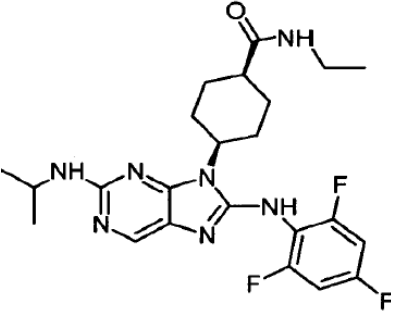
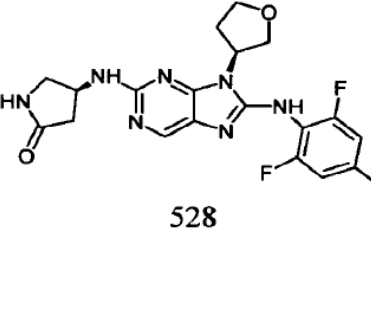
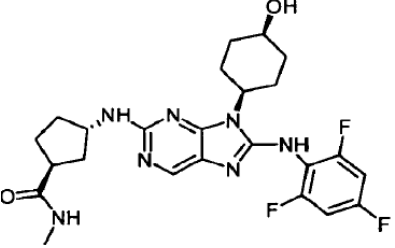
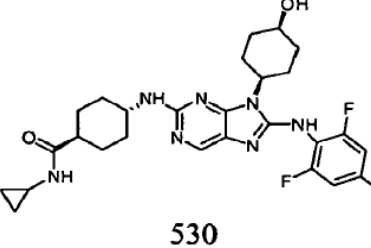
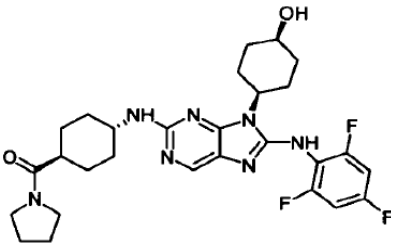
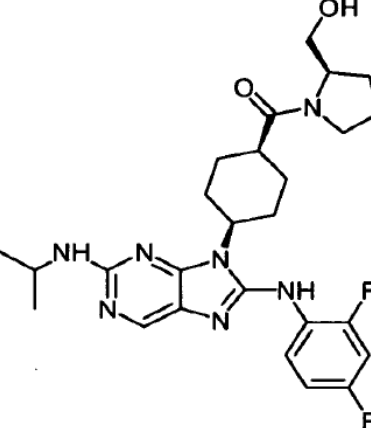
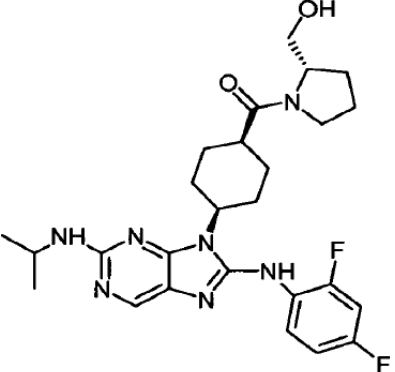
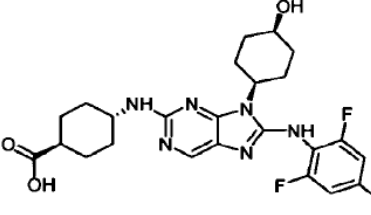
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>495</p>	466,1 (A)	 <p>496</p>	445,3 (A)
 <p>497</p>	448,4 (A)	 <p>498</p>	448,4 (A)
 <p>499</p>	516,3 (A)	 <p>500</p>	516,3 (A)
 <p>501</p>	560,5 (A)	 <p>502</p>	546,5 (A)

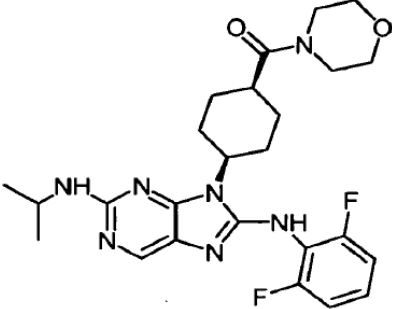
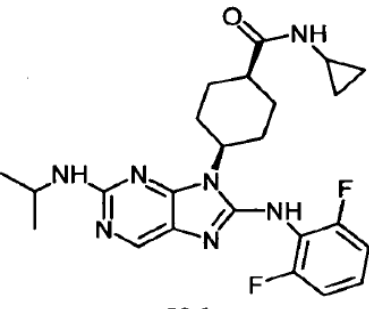
Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>503</p>	461,5 (A)	 <p>504</p>	375,8 (A)
 <p>505</p>	376 (A)	 <p>506</p>	376,1 (A)
 <p>507</p>	375,8 (A)	 <p>508</p>	479,3 (A)
 <p>509</p>	445,3 (A)	 <p>510</p>	408,1 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>511</p>	408,4 (A)	 <p>512</p>	497 (A)
 <p>513</p>	497 (A)	 <p>514</p>	461,4 (A)
 <p>515</p>	461,4 (A)	 <p>516</p>	417,6 (A)
 <p>517</p>	417,6 (A)	 <p>518</p>	486,6 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>519</p>	448,4 (A)	 <p>520</p>	488,4 (A)
 <p>521</p>	456,4 (A)	 <p>522</p>	442,4 (A)
 <p>523</p>	506 (A)	 <p>524</p>	506 (A)
 <p>525</p>	532,3 (A)	 <p>526</p>	532,3 (A)



Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>527</p>	476,5 (A)	 <p>528</p>	434,4 (A)
 <p>529</p>	518,6 (A)	 <p>530</p>	544,4 (A)
 <p>531</p>	558 (A)	 <p>532</p>	514,6 (A)
 <p>533</p>	514,7 (A)	 <p>534</p>	505,3 (A)

Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)	Compuesto	M+1 HPLC (minuto/ procedimiento)
 <p>535</p>	500,5	 <p>536</p>	470,6 (A)

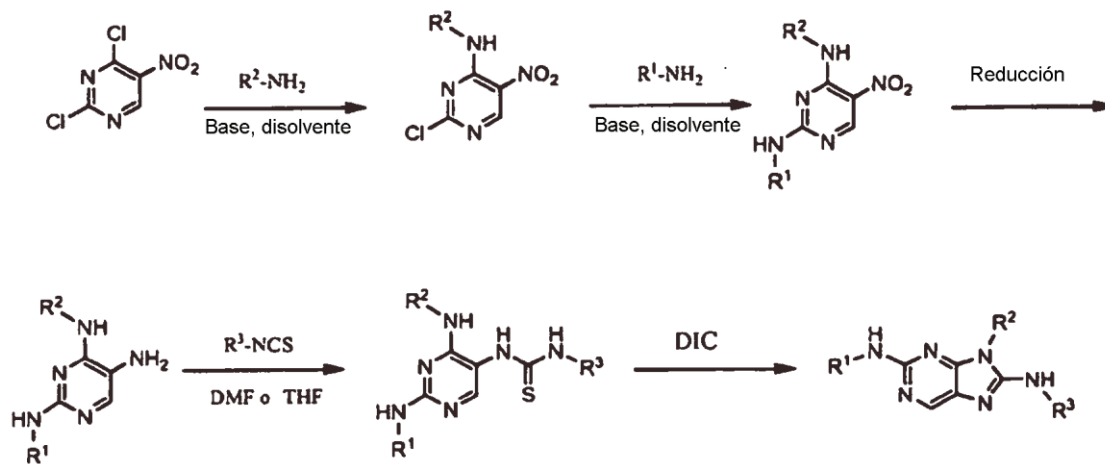
Los compuestos de la Tabla 1 se purificaron por HPLC utilizando una de las condiciones A-F descritas más arriba. También se exponen los datos de espectrometría en masa (ion M+1) para cada compuesto.

- 5 Los Compuestos de Aminopurina expuestos en la Tabla 1 se ensayaron en los ensayos del inhibidor JNK descritos en la presente memoria y se descubrió que tenían actividad como inhibidores JNK.

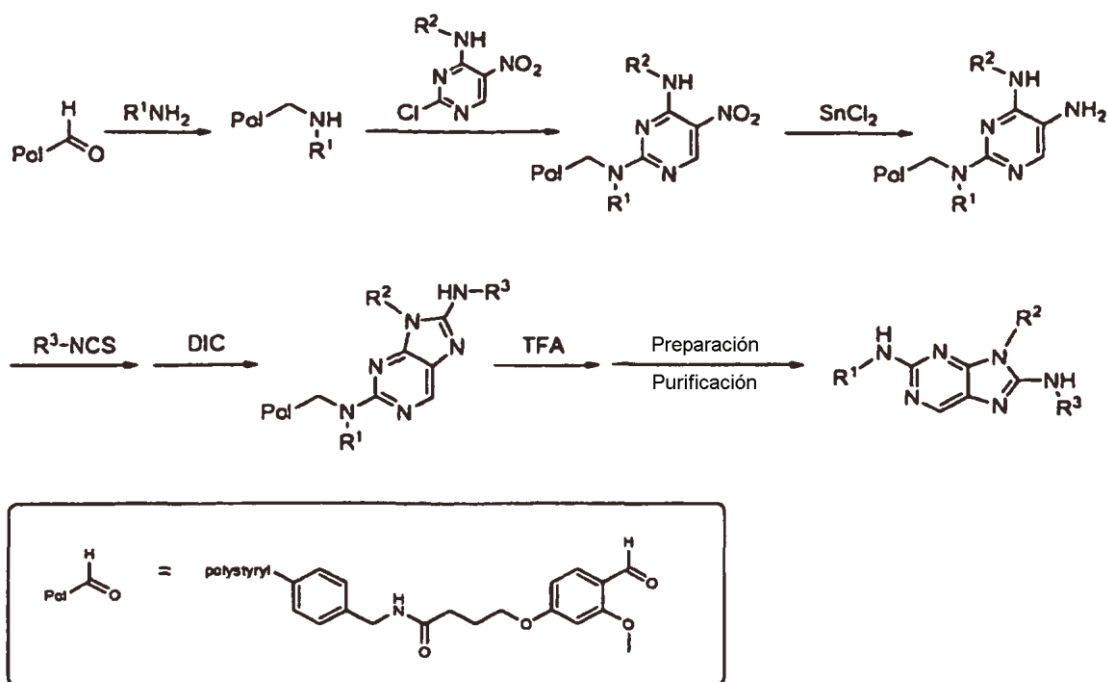
#### Métodos para fabricar los compuestos de aminopurina

Los Compuestos de Aminopurina pueden fabricarse utilizando síntesis orgánicas convencionales. A modo de ejemplo y sin limitación, un Compuestos de Aminopurina puede prepararse según lo detallado en los Esquemas 1 y 2 mostrados más abajo así como en los Ejemplos 5.1 a 5.53.

- 10 Esquema 1:

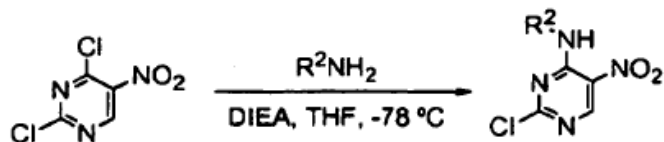


- Esquema 2:



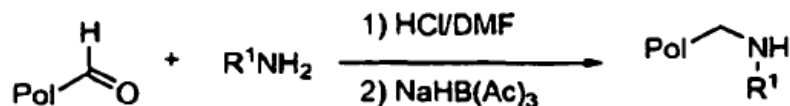
Las reacciones en fase sólida pueden realizarse en, por ejemplo, botellas de polipropileno de 250 ml para las reacciones grandes (>50 ml) o en jeringas de polipropileno poroso de 20 ml (<20 ml), Todos los disolvente utilizados para los lavados son aptos para HPLC a menos que se establezca lo contrario. Cada ciclo de lavado se lleva a cabo con 100 ml de disolvente para los grandes recipientes o 10 ml de disolvente para pequeños recipientes durante 3-5 minutos a menos que se establezca lo contrario. Las reacciones se agitan utilizando un Agitador de Placas de Titulación Lab-Line Instruments.

#### Síntesis de (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)-R<sup>2</sup>aminas



- 10 Se añade lentamente N,N-diisopropiletilamina a una solución de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina en THF a -78 °C. La R<sup>2</sup>amina deseada se disuelve en THF y se añade en gotas a la mezcla de la reacción a -78 °C. La reacción se agita durante aproximadamente 1 hora a -78 °C y después se permite que se caliente lentamente hasta temperatura ambiente durante toda la noche. Se añade diclorometano y Los componentes orgánicos se lavan con agua (500 ml) seguido por NaHCO<sub>3</sub> (acuoso, saturado, 2 x 500 ml). Los componentes orgánicos se secan (MgSO<sub>4</sub>), se filtran, y el disolvente se elimina al vacío para proporcionar el crudo (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)-R<sup>2</sup>amina. Los productos crudos se utilizan sin purificación adicional.
- 15

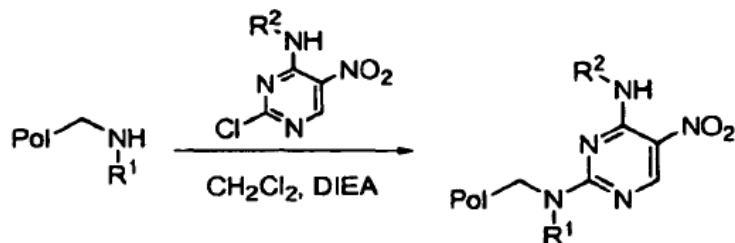
#### Aminación reductora con R<sup>1</sup> Aminas



- 20 Una solución de R<sup>1</sup> amina y HCl (una solución 4 M en dioxano) en 5% AcOH/DMF se añade a resina AM de 4-(4-formil-3-metoxifenoxi)butirilo en, por ejemplo, un tubo de propileno de 250 ml. La suspensión de resina se agita en un agitador durante aproximadamente 3 horas y se añade triacetoxiborohidruro de sodio. Continuando con la agitación durante aproximadamente 1 hora con ventilación periódica, la resina se lava dos veces con 5% AcOH/DMF utilizando, por ejemplo, un tubo de dispersión de gas de polipropileno al vacío para aspirar el disolvente. Una segunda solución de R<sup>1</sup> amina se añade seguida por la agitación durante 1 hora. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio y la suspensión se agita durante toda la noche a temperatura ambiente con ventilación del recipiente de reacción durante aproximadamente la primera 1 hora. El recipiente de reacción se drena y la resina se lava con DMF
- 25

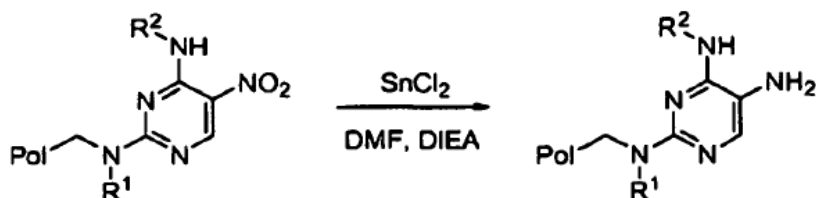
(2X), 50% MeOH/DMF (2X), DMF (3X) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4X). La resina después se divide en cinco, por ejemplo, jeringas de polipropileno poroso de 20 ml utilizando una suspensión en DMF.

#### N-arilación con (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)-R<sup>2</sup>amina



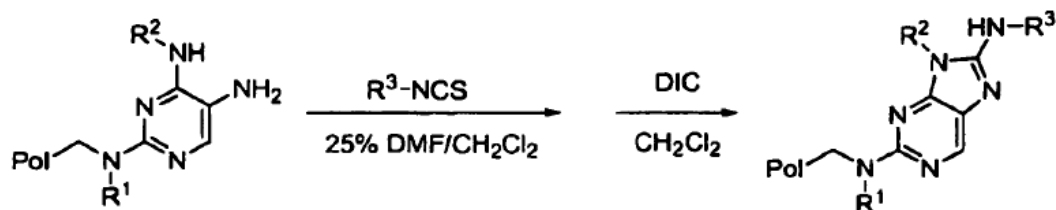
- 5 Una solución de (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)-R<sup>2</sup>amina cruda y N,N-diisopropiletilamina en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se añade a cada jeringa que contiene una diferente R<sup>1</sup> amina secundaria unida a la resina. Después de agitar la mezcla durante toda la noche, la solución de la reacción se drena y la resina se lava con DMF (5X) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7X).

#### Nitro reducción



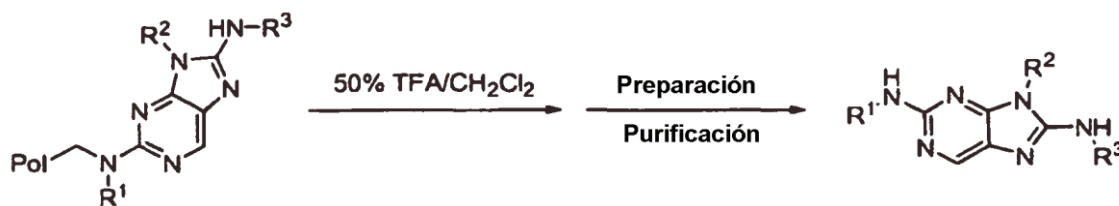
- 10 Una solución de SnCl<sub>2</sub> dihidratado en DMF purgado con nitrógeno se prepara en, por ejemplo, una botella de vidrio de 1 litro graduada. Se añade N,N-diisopropiletilamina, el volumen se ajusta hasta 1 litro con DMF saturado con nitrógeno, y la solución se purga durante aproximadamente 30 minutos con una corriente suave de nitrógeno. La solución de SnCl<sub>2</sub> se añade a cada 5-nitropirimidina unida a la resina en, por ejemplo, una jeringa de polipropileno poroso de 20 ml. Las reacciones se tapan y agitan durante toda la noche. Las soluciones de reacción se expelen, la resina se lava con DMF purgado con nitrógeno (3X) y se añade la solución de SnCl<sub>2</sub> preparada recientemente.
- 15 Después de agitar durante toda la noche, las soluciones de reacción se expelen y la resina se lava con DMF purgado con nitrógeno (3X). Siguiendo un tercer tratamiento con solución de SnCl<sub>2</sub> durante toda la noche, las soluciones de reacción se expelen, la resina se lava con DMF (3X) seguido por lavado alternos con 50% DMF/H<sub>2</sub>O y DMF (3X cada uno). Esto es seguido por el lavado de la resina con MeOH (2X), DMF (2X) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7X). Cada resina se divide en cuatro, por ejemplo, jeringas de polipropileno poroso de 20 ml utilizando una suspensión en DMF,
- 20

#### Formación de aminopurina



- 25 El isotiocianato deseado se añade a una suspensión de cada 5-aminopirimidina unida a la resina en DMF y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las jeringas de polipropileno poroso de 20 ml que contienen la suspensión de la resina se tapan y se permite que se agiten durante toda la noche. Las soluciones de reacción se expelen, seguido por la adición de una solución de DIC en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se permite que se agiten las reacciones durante aproximadamente 4 días, las soluciones de reacción se expelen y la resina se lava con DMF (5X) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7X). Las aminopurinas resultantes unidas a la resina se secan al vacío.

#### Escisión a partir de la resina



Una solución de TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 50% v/v se añade a las aminopurinas unidas a la resina en, por ejemplo, jeringas de polipropileno poroso de 20 ml. Se permite que las suspensiones de resina resultantes se agiten durante toda la noche, las soluciones de reacción se recolectan y se secan al vacío. Los residuos se dividen entre EtOAc y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso saturado. Después de la extracción adicional con EtOAc (2 x 4 ml.) las capas orgánicas se recolectan, se pasan a través de filtro de polietileno y se secan al vacío. Los residuos se disuelven en DMSO, se pasan a través de un tapón de sílice y se purifican utilizando HPLC preparativa para proporcionar la aminopurina deseada.

Los ejemplos ilustrativos de los Esquemas 1 y 2 se exponen en los Ejemplos 5.1 a 5.14, más abajo.

Las sales aceptables para uso farmacéutico de los Compuestos de Aminopurina pueden formarse mediante técnicas convencionales y conocidas, tal como mediante la reacción del Compuesto de Aminopurina con ácido apropiado según lo divulgado más arriba. Dicha sales se forman típicamente en rendimientos altos a temperaturas moderadas, y a menudo se preparan aislando simplemente el compuesto a partir de un lavado ácido apropiado en la etapa final de la síntesis. El ácido formador de sal puede disolverse en un disolvente orgánico apropiado, o disolvente orgánico acuoso, tal como un alcohol, cetona o éster. Por otro lado, si se desea el Compuesto de Aminopurina en forma de base libre, el mismo puede aislarse de una etapa de lavado final básico, de acuerdo a técnicas conocidas. Por ejemplo, una técnica típica para preparar sal de hidrocloreto es disolver la base libre en un disolvente apropiado, y secar la solución completamente, sobre tamices moleculares, antes hacer burbujear cloruro de hidrógeno gaseoso a través del mismo.

En una realización particular, en la presente memoria se proporcionan usos para el tratamiento o prevención de la resistencia a la insulina. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan usos para el tratamiento o prevención de la resistencia a la insulina que lleva a diabetes (por ejemplo, diabetes de tipo II).

Además en la presente memoria se divulgan usos para el tratamiento o prevención del síndrome X o síndrome metabólico.

En otra realización, en la presente memoria se proporcionan usos para el tratamiento o prevención de diabetes, que es diabetes de Tipo I de aparición lenta, diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, diabetes de aparición en la edad madura, diabetes juvenil, diabetes dependiente de la insulina, diabetes no dependiente de la insulina, diabetes relacionada con la desnutrición, diabetes propensa a la cetosis, pre-diabetes (por ejemplo, metabolismo de glucosa deteriorado), diabetes relacionada con fibrosis cística, o diabetes resistente a la cetosis. También se describen usos para el tratamiento o prevención de diabetes, diabetes de Tipo II, diabetes de Tipo I, diabetes insípida (por ejemplo, diabetes insípida neurogénica, diabetes insípida nefrogénica, diabetes insípida dipsogénica, o diabetes insípida gestagénica), síndrome ovárico poliquístico, y hemocromatosis.

En otra realización, en la presente memoria se proporcionan usos para el tratamiento o prevención de enfermedades y trastornos fibróticos, que son fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis hepática, esteatofibrosis y esteatohepatitis.

### Composiciones farmacéuticas y vías de administración

Los Compuestos de Aminopurina pueden administrarse a un paciente por vía oral o por vía parenteral en la forma convencional de preparaciones, tal como cápsulas, microcápsulas, comprimidos, gránulos, polvo, pastillas, píldoras, supositorios, inyecciones, suspensiones y jarabes. Las formulaciones apropiadas pueden prepararse mediante procedimientos empleados comúnmente que utilizan aditivos convencionales, orgánicos o inorgánicos, tal como un excipiente (por ejemplo, sacarosa, almidón, manitol, sorbitol, lactosa, glucosa, celulosa, talco, fosfato de calcio o carbonato de calcio), un ligante (por ejemplo, celulosa, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, polipropilpirrolidona, polivinilpirrolidona, gelatina, goma arábiga, polietilenglicol, sacarosa o almidón), un desintegrador (por ejemplo, almidón, carboximetilcelulosa, hidroxipropilalmidón, hidroxipropilcelulosa sustituida inferior, bicarbonato de sodio, fosfato de calcio o citrato de calcio), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido silícico anhidro liviano, talco o sulfato de lauril sódico), un agente saborizante (por ejemplo, ácido cítrico, mentol, glicina o naranja en polvo), un conservante (por ejemplo benzoato de sodio, bisulfito de sodio, metilparabeno o propilparabeno), un estabilizante (por ejemplo, ácido cítrico, citrato de sodio o ácido acético), un agente de suspensión (por ejemplo, metilcelulosa, polivinilpirrolidona o estearato de aluminio), un agente dispersante (por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa), un diluyente (por ejemplo, agua), y cera base (por ejemplo, manteca de cacao, petrolato blanco o polietilenglicol). La cantidad efectiva de los Compuestos de Aminopurina en la composición farmacéutica puede estar en un nivel que ejercerá el efecto deseado; por ejemplo, aproximadamente 0,005 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal de un paciente en dosificación unitaria para tanto la administración oral

como la parenteral.

La dosis de un Compuesto de Aminopurina que debe administrarse a un paciente es bastante ampliamente variable y puede someterse al juicio de un practicante del cuidado de la salud. En general, los Compuestos de Aminopurina pueden administrarse una a cuatro veces por día en una dosis de aproximadamente 0,005 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal de un paciente en un paciente, pero la dosificación anterior puede variarse en forma apropiada dependiendo de la edad, peso corporal y afección médica del paciente y el tipo de administración. En una realización, la dosis es aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal de un paciente, aproximadamente 0,05 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal de un paciente, aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 0,75 mg/kg de peso corporal de un paciente o aproximadamente 0,25 mg/kg de peso corporal de un paciente a aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal de un paciente. En una realización, una dosis se proporciona por día. En cualquier caso dado, la cantidad del Compuesto de Aminopurina administrada dependerá de factores tales como la solubilidad del componente activo, la formulación utilizada y la vía de administración,

En otra realización, en los presentes usos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno deben administrarse a un paciente que lo necesita aproximadamente 0,375 mg/día a aproximadamente 750 mg/día, aproximadamente 0,75 mg/día a aproximadamente 375 mg/día, aproximadamente 3,75 mg/día a aproximadamente 75 mg/día, aproximadamente 7,5 mg/día a aproximadamente 55 mg/día o aproximadamente 18 mg/día a aproximadamente 37 mg/día de un Compuesto de Aminopurina.

En otra realización, en los presentes usos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno deben administrarse a un paciente que lo necesita aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, aproximadamente 10 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, aproximadamente 100 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, aproximadamente 400 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, aproximadamente 600 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, aproximadamente 400 mg/día a aproximadamente 800 mg/día o aproximadamente 600 mg/día a aproximadamente 800 mg/día de un Compuesto de Aminopurina. En una realización particular, en los presentes usos deben administrarse a un paciente que lo necesita 400 mg/día, 600 mg/día o 800 mg/día de un Compuesto de Aminopurina.

Además en la presente memoria se divulgan formulaciones de dosificación unitarias que comprenden entre aproximadamente 1 mg y 200 mg, aproximadamente 35 mg y aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 125 mg y aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 250 mg y aproximadamente 1000 mg, o aproximadamente 500 mg y aproximadamente 1000 mg de un Compuesto de Aminopurina.

Además en la presente memoria se divulgan formulaciones de dosificación unitarias que comprenden aproximadamente 100 mg o 400 mg de un Compuesto de Aminopurina.

Además en la presente memoria se divulgan formulaciones de dosificación unitarias que comprenden 1 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 30 mg, 35 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg o 1400 mg de un Compuesto de Aminopurina.

Un Compuesto de Aminopurina puede administrarse una vez, dos veces, tres, cuatro o más veces por día. En una realización particular, las dosis de 600 mg o menos se administran como una dosis de una vez por día y dosis de más de 600 mg se administran dos veces por día en una cantidad igual a la mitad de la dosis diaria total.

Un Compuesto de Aminopurina puede administrarse por vía oral por razones de conveniencia. En una realización, cuando se administra por vía oral, un Compuesto de Aminopurina se administra con una comida y agua. En otra realización, el Compuesto de Aminopurina se dispersa en agua o jugo (por ejemplo, jugo de manzana o jugo de naranja) y se administra por vía oral como una suspensión.

El Compuesto de Aminopurina también puede administrarse por vía intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, percutánea, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, mucosa, por inhalación, o tópica a los oídos, nariz, ojos, o piel. El modo de administración se deja al criterio del practicante del cuidado de la salud, y puede depender en parte del sitio de la afección médica.

Además en la presente memoria se divulgan cápsulas que contienen un Compuesto de Aminopurina sin un soporte, excipiente o vehículo adicional.

Además en la presente memoria se divulgan composiciones que comprenden una cantidad efectiva de un Compuesto de Aminopurina y un soporte o vehículo aceptable para uso farmacéutico, en las que un soporte o vehículo aceptable para uso farmacéutico puede comprender un excipiente, diluyente, o una mezcla de los mismos. En una realización, la composición es una composición farmacéutica.

Las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, soluciones, soluciones parenterales, pastillas, supositorios y suspensiones y similares. Pueden formularse composiciones que contengan una dosis diaria, o una fracción conveniente de una dosis diaria, en una unidad de dosificación, que

puede ser un comprimido o cápsula simple o volumen conveniente de un líquido. En una realización, las soluciones se preparan a partir de sales solubles en agua, tal como la sal de hidrocloreuro. En general, todas las composiciones se preparan de acuerdo a procedimientos conocidos en la química farmacéutica. Las cápsulas pueden prepararse mezclando un Compuesto de Aminopurina con un vehículo o diluyente apropiado y vertiendo la cantidad apropiada de la mezcla en cápsulas. Los vehículos y diluyentes habituales incluyen, pero no se limitan a, sustancias en polvo inertes tal como almidón de mucha clase diferentes, celulosa en polvo, especialmente celulosa cristalina y microcristalina, azúcares tal como fructosa, manitol y sacarosa, harinas de granos y polvos comestibles similares.

Los comprimidos pueden prepararse mediante la compresión directa, por granulación en proceso húmedo, o por granulación en proceso seco. Sus formulaciones habitualmente incorporan diluyentes, ligantes, lubricantes y disgregantes así como el compuesto. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, diversos tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas tal como cloruro de sodio y azúcar en polvo. Los derivados de celulosa en polvo también son útiles. Los ligantes de comprimidos típicos son sustancias tal como almidón, gelatina y azúcares tal como lactosa, fructosa, glucosa y similares. Las gomas naturales y sintéticas también son convenientes, incluyendo acacia, alginatos, metilcelulosa, polivinilpirrolidina y similares. Polietilenglicol, etilcelulosa y ceras también pueden servir como ligantes.

Un lubricante podría ser necesario en una formulación de comprimido para evitar que el comprimido y puntas se adhieran a la matriz. El lubricante puede elegirse de sólidos de deslizamiento tal como talco, estearato de magnesio y calcio, ácido esteárico y aceite vegetales hidrogenados. Los disgregantes de comprimidos son sustancias que se hinchan cuando son humedecidas para romper el comprimido y liberar el compuesto. Los mismos incluyen almidones, arcillas, celulosas, alginas y gomas. Más particularmente, almidones de maíz y papa, metilcelulosa, agar, bentonita, celulosa de madera, esponja natural en polvo, resina de intercambio catiónico, ácido alginico, goma agar, pulpa cítrica y carboximetilcelulosa, por ejemplo, pueden utilizarse así como sulfato de lauril sódico. Los comprimidos pueden recubrirse con azúcar como saborizante y sellador, o con agente protectores formadores de película para modificar las propiedades de disolución del comprimido. Las composiciones también pueden formularse como comprimidos masticables, por ejemplo, utilizando sustancias tal como manitol en la formulación.

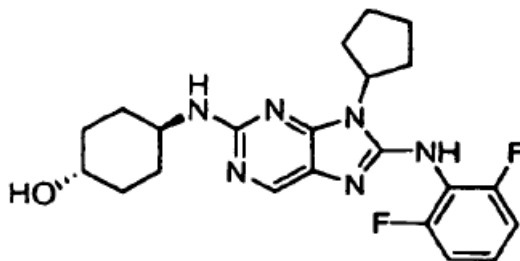
Cuando se desea administrar un Compuesto de Aminopurina como un supositorio, pueden utilizarse bases típicas. La manteca de cacao es una base de supositorio tradicional, que puede modificarse mediante la adición de ceras para elevar su punto de fusión levemente. Las bases de supositorios miscibles en agua que comprenden, particularmente, polietilenglicoles de diversos pesos moleculares son de amplio uso.

El efecto de los Compuestos de Aminopurina puede retardarse o prolongarse mediante la formulación adecuada. Por ejemplo, un pélet lentamente soluble de los Compuestos de Aminopurina puede prepararse e incorporarse en un comprimido o cápsula, o como un dispositivo implantable de liberación lenta. La técnica también incluye realizar pélets de diferentes índices de disolución y cápsulas de llenado con una mezcla de los pélets. Los comprimidos o cápsulas pueden recubrirse con una película que resista la disolución durante un período de tiempo predecible. Aún las preparaciones parenterales pueden hacerse de larga acción, disolviendo o suspendiendo los Compuestos de Aminopurina en vehículos aceitosos o emulsionados que permitan que se dispersen lentamente en el suero.

## EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos se presentan a modo de ilustración, no limitación.

Ejemplo 5.1 Síntesis de 4-((8-((2,6-difluorofenil)amino)-9-ciclopentilpurin-2-il)amino)trans-ciclohexan-1-ol



### 1. (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)ciclopentilamina

2,4-dicloro-5-nitropirimidina (10,3 mmol, 2 g) y ciclopentilamina (10,31 mmol, 1,02 ml) se disolvieron en THF (60 ml) y se enfriaron hasta  $-78^{\circ}\text{C}$ . Se añadió N,N-diisopropiletilamina (10,31 mmol, 1,8 ml) en gotas. La mezcla de la reacción se agitó a  $-78^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente 45 minutos. Se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 16 horas. Después de la eliminación del disolvente el residuo se redisolvió en EtOAc y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó utilizando cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$  9:1 n-hexanos/ acetato de etilo) para dar el producto deseado (2,11 g, 84% de rendimiento). ES-MS: 242 (M+1) Cuando se utiliza sal de

hidrocloruro de una amina en lugar de la ciclopentilamina descrita más arriba, se utilizan 2 a 3 equivalentes de N,N-diihopropiletilamina y diclorometano como disolvente.

2. 4-([4-(ciclopentilamino)-5-nitropirimidin-2-il]amino)trans-ciclohexan-1-ol

5 (2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)ciclopentilamina (6,18 mmol, 1,5 g.) y trans-4-aminociclohexan-1-ol (7,42 mmol, 854 ml) se mezclaron en DMF (18 ml) y se añadió N,N-diiisopropiletilamina (7,42 mmol, 1,29 ml). La mezcla de la reacción se agitó durante toda la noche. Se retiró el disolvente al vacío y el residuo se purificó utilizando cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 1:1 n-hexanos/ acetato de etilo → 7:3 n-hexanos/ acetato de etilo → acetato de etilo) para dar el producto deseado (1,75 g, 88% de rendimiento). ES-MS: 322 (M+1). Cuando se utiliza sal de hidrocloruro de una amina en lugar del trans-4-aminociclohexan-1-ol descrito más arriba, se utilizan como disolvente 2 a 3 equivalentes de N,N-diiisopropiletilamina o bicarbonato de sodio y tetrahidrofurano o acetonitrilo.

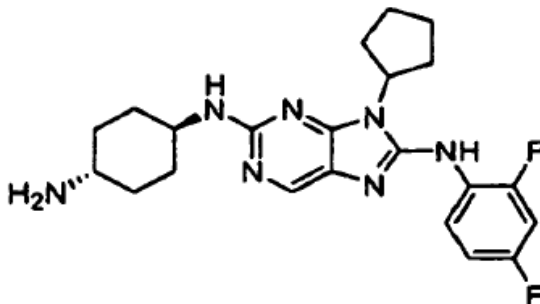
3. 4-((5-amino-4-(ciclopentilamino)pirimidin-2-il]amino)trans-ciclohexan-1-ol

15 4-([4-(ciclopentilamino)-5-nitropirimidin-2-il]amino)trans-ciclohexan-1-ol (2,18 mmol, 700 mg) se disolvió en 20 ml de EtOH y se hidrogenó durante toda la noche a 1 bar con Pd/C (10%) como catalizador. El catalizador se filtró y el disolvente se evaporó para dar el producto deseado (635 mg, 100% de rendimiento) que se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. ES-MS: 292 (M+1). Esta reducción también puede lograrse utilizando el siguiente procedimiento: se disuelve Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (140,0 mmol, 14 equivalentes) en 150 ml de agua y 75 ml de dioxano y se añaden 7,5 ml de solución NH<sub>4</sub>OH. Se añade el compuesto nitro correspondiente (10,0 mmol, 1 equivalente) y la mezcla de la reacción se agita durante 12 a 72 horas. Se evapora dioxano y el producto se extrae utilizando EtOAc o salmuera/THF. La fase orgánica se seca sobre MgSO<sub>4</sub> y se evapora para dar el producto deseado.

20 4. 4-((8-[(2,6-difluorofenil]amino]-9-ciclopentilpurin-2-il]amino)trans-ciclohexan-1-ol

25 4- ((5-amino-4-(ciclopentilamino)pirimidin-2-il]amino)trans-ciclohexan-1-ol (1,13 mmol, 330 mg) se disolvió en DMF (8,5 ml) y se añadió 2,6-difluorofenil-isotiocianato (1,13 mmol, 0,146 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 90 minutos. Se añadió etanol (2,5 ml) y la mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente 30 minutos adicionales. Se añadió N,N-diiisopropilcarbodiimida (3,40 mmol, 0,532 ml) y la mezcla de la reacción se agitó durante toda la noche. Se retiró el disolvente y el residuo se purificó utilizando cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 1; 1 n-hexanos/acetato de etilo → acetato de etilo → 1% metanol/acetato de etilo) para dar el producto deseado (222,5 mg, 46% de rendimiento). ES-MS: 429 (M+1). También puede utilizarse tetrahidrofurano como disolvente en esta etapa.

Ejemplo 5.2 Síntesis de trans-(4-aminociclohexil)(8-[2,4-difluorofenil]amino]-9-ciclopentilpurin-2-il] amina



30

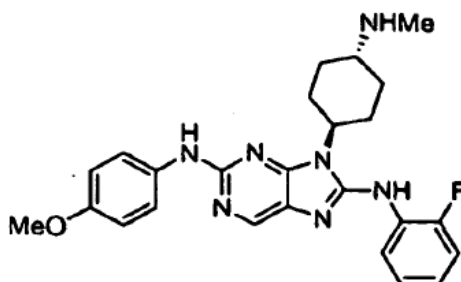
1. trans-(4-aminociclohexil)(8-(2,4-difluorofenil]amino]-9-ciclopentilpurin-2-il]amina

35 N-(4-((8-[(2,4-difluorofenil]amino]-9-ciclopentilpurin-2-il]amino)trans-ciclohexil)(terc-butoxi)carboxamida (0,71 mmol, 375 mg) se disolvió en etanol (6 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió cloruro de acetilo (3 ml) en gotas y se permitió que la reacción alcance temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. El precipitado se filtró, se lavó con éter etílico y se secó bajo alto vacío para producir 372 mg (98% de rendimiento) como una sal de trihidrocloruro. ES-MS: 428 (M+1).

40 Alternativamente, N-(4-((8-((2,4-difluorofenil]amino)-9-ciclopentilpurin-2-il]amino)trans-ciclohexil)(terc-butoxi)carboxamida puede disolverse en 9 ml de cloruro de metileno seguido por la adición de 2,25 ml de TFA. La mezcla de la reacción se agita durante aproximadamente 2 horas. El disolvente se elimina al vacío, el residuo se redissuelve en cloruro de metileno y se neutraliza con hidróxido de amonio. La solución después se lava con una solución saturada de carbonato de sodio. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae además con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio, se filtraron y el disolvente se eliminó al vacío para producir la amina.

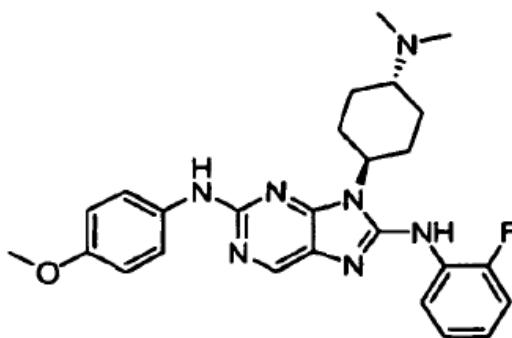
Ejemplo 5.3 Síntesis de 8-(2-fluorofenilamino)-2-(4-metoxifenilamino)-9-(trans-4-(metilamino)ciclohexil)-9H-purina





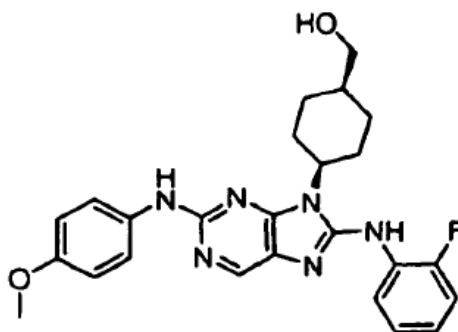
- La amina Boc-prottegida (481 mg, 0,88 mmol) se disolvió en THF (6 ml) y se añadió hidruro de aluminio y litio (solución 1,0 M en THF, 2,64 ml, 2,64 mmol). La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 65°C durante toda la noche. La mezcla de la reacción se enfrió hasta 0°C y se desactivó en gotas con agua hasta que no se observó ninguna evolución de hidrógeno. El precipitado se filtró y se lavó extensamente con acetato de etilo. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó utilizando HPLC semi-preparativa (20% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) → 80% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 30 minutos) para producir 191 mg del producto.

Ejemplo 5.4 Síntesis de 9-(trans-4-(dimetilamina)ciclohexil)-8-{2-fluorofenil}-2-(4-metoxifenil)9H-purina



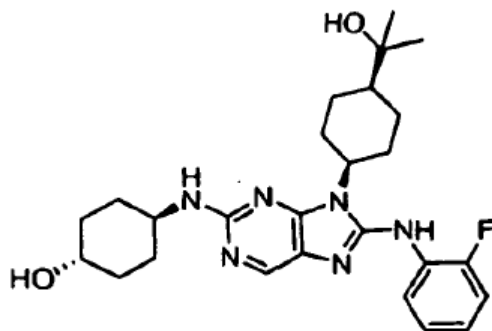
- Se disolvió amina (200 mg, 0,359 mmol) en una mezcla 1: 1 de THF/ cloruro de metileno (4 ml) y se añadió una solución de formaldehído (37% en agua. 53 µl, 0,718 mmol) en THF (1 ml) en gotas, seguido por triacetoxiborohidruro de sodio (761 mg, 3,59 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se disolvió en DMSO/metanol (mezcla 1:1) y se purificó mediante HPLC semi-preparativa (20 → 70% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 30 minutos). Las fracciones que contenían el producto se desactivaron con hidróxido de amonio. Después de reposar durante toda la noche, se formó un precipitado y el mismo se filtró y se secó bajo alto vacío, para producir 108 mg del compuesto de dimetilamino (63% de rendimiento).

Ejemplo 5.5 Síntesis de (4-(8-{2-fluorofenil}amino)-2-((4-metoxifenil)amino)purin-9-il)trans-ciclohexil)metan-1-ol

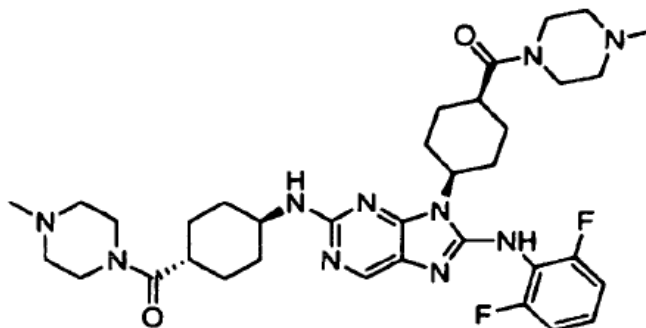


- Se disolvió 4-(8-[(2-fluorofenil)amino]-2-[(4-metoxifenil)amino] purin-9-il)-trans-ciclohexanocarboxilato de etilo (0,28 g, 0,55 mmol) en 9 ml de THF y se enfrió hasta 0°C (bajo atmósfera de nitrógeno). Se añadió en gotas 1,38 ml de LiAlH<sub>4</sub> 1,0M en THF. La solución se volvió naranja oscuro a medida que se añadía LiAlH<sub>4</sub>. La mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente 5 horas y se desactivó por la adición de 40 ml de agua, La reacción se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se combinaron Los componentes orgánicos y se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y el disolvente se eliminó al vacío. La mezcla cruda de la reacción después se purificó utilizando HPLC preparativa de fase inversa (20-80% acetonitrilo/agua (0,1 % TFA) durante 30 minutos) para obtener 0,126 g del producto deseado (50% de rendimiento) después de la neutralización de la sal de TFA. ES-MS: 463 (M+1).

Ejemplo 5.6 Síntesis de trans-4-{8-[(2-fluorofenil)amino]-9-[cis-4-(1-hidroxi-isopropil)ciclohexil]purin-2-il}amino)ciclohexan-1-ol

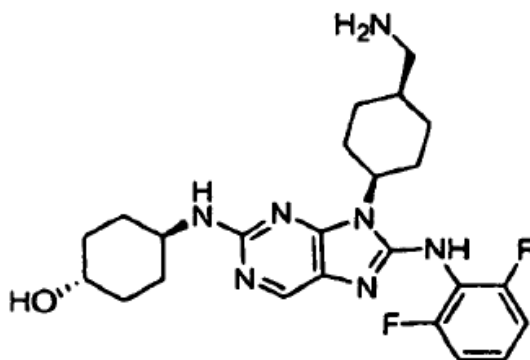


- 5 cis-4-(8-[(2-fluorofenil)amino]-2-[trans-(4-hidroxiciclohexil)amino]purin-9-il)ciclohexano carboxilato de etilo (0,200g, 0,4 mmol) se disolvió en 4 ml de THF seco. Se añadió bromuro de metil magnesio (0,6 ml, solución 3,0M en éter dietílico, 4,0 equivalentes) en gotas a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se volvió amarillo brillante y se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. La finalización de la reacción se monitoreó por LC-MS. Se añadieron 4 equivalentes adicionales de solución de grignard de metil magnesio y la mezcla de la reacción se calentó durante toda la noche a aproximadamente 30°C.
- 10 La mezcla de la reacción después se enfrió hasta temperatura ambiente y se desactivó lentamente con solución acuosa saturada de cloruro de amonio. El crudo se extrajo en acetato de etilo y los extractos se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El producto se purificó utilizando cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando 1-4% (etanol/hidróxido de amonio: 8:1) en diclorometano. El compuesto se aisló como un sólido rosa suave (57 mg, 29% de rendimiento).
- 15 Ejemplo 5.7 Síntesis de N-metilpiperazinil)amida de ácido cis-4-[8-[(2,6-difluorofenil)amino]-2-trans-((4-[4-metilpiperazinil)carbonil]ciclohexil)amino)purin-9-il)ciclohexanocarboxílico



- 20 Se disolvió Diester (10,0 mmol, 1 equivalente) en 100 ml de THF y se añadió LiOH (200,0 mmol, 20 equivalentes) (como una solución acuosa 1 M). La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 60°C durante toda la noche. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el pH se ajustó hasta 4 añadiendo HCl 6N. Se añadió salmuera y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con THF y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó para dar el producto deseado.
- 25 Se mezclaron diácido (10,0 mmol, 1 equivalente), HOBT (20,0 mmol, 2 equivalentes) y EDCI (24,0 mmol, 2,4 equivalentes) en 100 ml de DMF y se agitaron durante 15 minutos. Se añadió amina (24,0 mmol, 2,4 equivalentes) y la mezcla de la reacción se agitó durante toda la noche. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó utilizando HPLC.

Ejemplo 5.8 Síntesis de 4-((9-[cis-4-(aminometil)ciclohexil]-8-[(2,6-difluorofenil)amino]purin-2-il)trans-amino)ciclohexan-1-ol



### 1. ácido cis-4-((terc-butoxi)carbonilamino)ciclohexano carboxílico

Se disolvió ácido cis-4-aminociclohexil carboxílico (2,0g, 13,96 mmol) en 40 ml de 1,4-dioxano. Se añadieron dos equivalentes de di-terc-butil-dicarbonato (6,094g, 27,92 mmol) seguido por 3 equivalentes de bicarbonato de sodio (4,06g, 41,88 mmol) disuelto en 40 ml de agua. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 12 horas. La finalización de la reacción se monitoreó por LC-MS. Se añadió en gotas KHSO<sub>4</sub> acuoso saturado, hasta que se interrumpió la evolución de gas. El disolvente después se eliminó bajo presión reducida y el producto crudo se extrajo en acetato de etilo. Los componentes orgánicos combinados se lavaron con KHSO<sub>4</sub> acuoso saturado y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, produciendo 2,6 g del producto. En base a <sup>1</sup>H RMN, el producto era puro y se utilizó en etapas posteriores sin purificación adicional. ES-MS (m/z) 244.

### 2. cis-(terc-butoxi)-N-[4-(hidroximetil)ciclohexil]carboxamida

Ácido cis-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]ciclohexano carboxílico (2,6g, 10,68 mmol) se disolvió en THF (20 ml) y se enfrió hasta -10°C (MeOH-hielo). Se añadió N-Metil morfolina seguido por cloromato de isobutilo (1,175 ml, 10,68 mmol). Después de 10 minutos, se añadió NaBH<sub>4</sub> como un sólido en una porción (1,213g, 32,06 mmol). La mezcla de la reacción se calentó hasta 0°C y se añadió metanol en gotas (13,35 ml). Después de 30 minutos, la reacción se desactivó con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 5%. La reacción se monitoreó por LC-MS hasta la finalización. El producto crudo se extrajo con acetato de etilo y los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se obtuvo un aceite incoloro y se solidificó lentamente a temperatura ambiente. El producto y pureza se evaluaron mediante LC-MS y <sup>1</sup>H RMN, No fue necesaria ninguna purificación adicional. (rendimiento cuantitativo) ES-MS (m/z) 230.

### 3. cis-(terc-butoxi)-N-[4-[(1,3-dioxobenzoc]azolidin-2-il)metil]ciclohexil]carboxamida

cis -(terc-butoxi)-N-[4-(hidroximetil)ciclohexil]carboxamida (0,5g, 2,18 mmol) y trifetil fosfina unida a la reina (1,453g, 4,36 mmol, 3 mmol/g resina) se suspendieron en 15 ml de THF seco. Se añadió Ftalimida en 5 ml de THF seguido por azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) (0,858 ml, 4,36 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se monitoreó por LC-MS. Después de agitar durante toda la noche a temperatura ambiente, la resina se eliminó por filtración y se lavó múltiples veces con porciones de 5 ml de THF. El filtrado combinado con los lavados se concentró bajo presión reducida. El producto se purificó utilizando cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando acetato de etilo al 10% en hexanos como eluyente. El producto se aisló como un sólido blanco (0,486g, 1,35 mmol, 62% de rendimiento) ES-MS (m/z) 359.

### 4. cis-2-f(4-aminociclohexil)metil]benzo[c]azolidina-1,3-diona

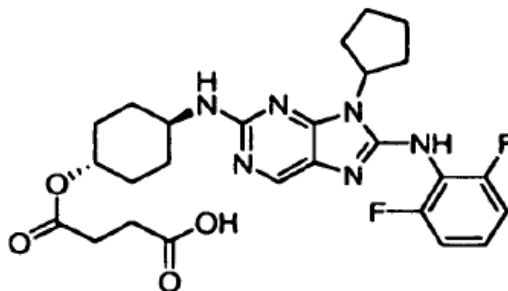
cis-(terc-butoxi)-N-[4-[(1,3-dioxobenzoc]azolidin-2-il)metil]ciclohexil] carboxamida (0,486g, 1,35 mmol) se suspendió en etanol (5 ml) y se hizo reaccionar con cloruro de acetilo (1 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 4 horas. La finalización de la desprotección se monitoreó por LC-MS. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el producto se aisló como su sal de HCl como un sólido blanco y se utilizó sin purificación adicional en la adición posterior a 2,4-dicloro-5-nitropirimidina: ES-MS (m/z) 259.

### 5. 4-[(9-[cis-4-(aminometil)ciclohexil]-8-((2,6-difluorofenil)amina)purin-2-il]trans-amino)ciclohexan-1-ol

Se disolvió 2-((4-(8-[(2,6-difluorofenil)amino]-2-[trans-(4-hidroxiciclohexil)-amino]purin-9-il)ciclohexilmetil)benzo[c]azolidina-1,3-diona (0,318g, 0,52 mmol) en etanol (4,5 ml) y se hizo reaccionar con hidrazina (42 µl, 2,4 equivalentes) a temperatura de reflujo durante aproximadamente 5 horas. Se formó un precipitado blanco que se eliminó por filtración. El filtrado combinado con lavados del precipitado, se concentró bajo presión reducida. El producto se purificó utilizando cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando 5-10% (etanol NH<sub>4</sub>OH: 8/1) en diclorometano como eluyente. El producto se aisló como sólido blanco (198 mg, 80% de rendimiento).

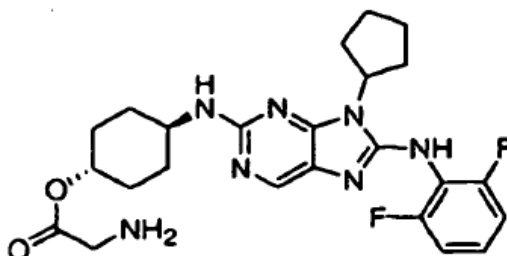
### Ejemplo 5.9 Síntesis de ácido 3-((trans-4-(8-(2,6-difluorofenilamino)-9-

ciclopentil-9H-purin-2-ilamino)ciclohexiloxi)carbonil)propanoico



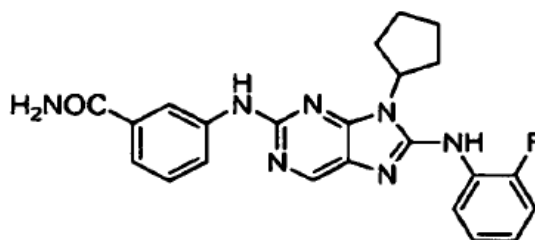
- 5 Se mezclaron trans-4-(8-(2,6-difluorofenilamino)-9-ciclopentil-9H-1-purin-2-ilamino)ciclohexanol (1 mmol, 1 equivalente) y anhídrido succínico (10 mmol, 10 equivalentes) en 25 ml de piridina y se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla se calentó a 50°C durante aproximadamente 10 horas y el disolvente posteriormente se evaporó. El residuo se recrystalizó a partir de acetona/MeOH para dar el producto deseado.

Ejemplo 5.10 Síntesis de trans-4-(8-(2,6-difluorofenilamino)-9-ciclopentil-9H-purin-2-ilamino)ciclohexil-2-aminoacetato



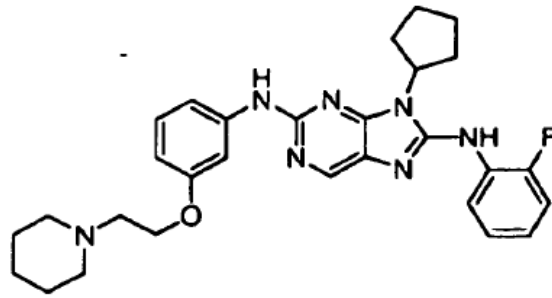
- 10 Se mezclaron trans-4-(8-(2,6-difluorofenilamino)-9-ciclopentil-9H-purin-2-ilamino)ciclohexanol (1 mmol, 1 equivalente) DCC (2 mmol, 2 equivalentes), BOC-glicina (1,12 mmol, 1,12 equivalentes) y DMAP (1,12 mmol, 1,12 equivalentes) en 20 ml de DCM y se agitaron a temperatura ambiente durante 2 días. Se añadieron agua y EtOAc, se separaron las fases y la fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. Se evaporó el disolvente y el residuo se purificó utilizando cromatografía en columna para dar el producto Boc protegido deseado.
- 15 El producto Boc protegido (1 mmol, 1 equivalente) se disolvió en 15 ml de DCM y se añadieron 4 ml TFA. La mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente una hora y el disolvente se evaporó. Se añadieron EtOAc y solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y las fases se separaron. La fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó utilizando cromatografía en columna/HPLC para dar el producto deseado.

Ejemplo 5.11 Síntesis de 3-(8-(2-fluorofenilamino)-9-ciclopentil-9H-purin-2-ilamino)benzamida



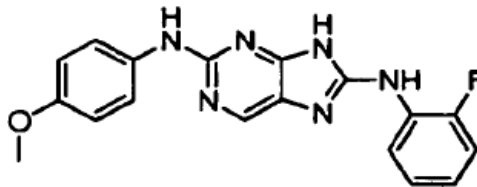
- 20 A una solución fría (0°C) del compuesto ciano (100 mg, 0,24 mmol) en etanol (1 ml), se añadieron hidróxido de sodio (18 mg, 0,46 mmol) y peróxido de hidrógeno (30%, 53 µl, 0,48 mmol). La mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente 4 horas a temperatura ambiente. Solamente se observó el material de partida por LCMS. Se añadieron otros 18 mg de hidróxido de sodio y 53 µl de peróxido de hidrógeno y la mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente otras 8 horas. Aún solamente se observó el material de partida. La reacción se calentó hasta 60°C durante aproximadamente 4 horas. Se observó la formación del producto junto con trazas de ácido carboxílico. La reacción se desactivó hasta pH=7 con HCl 6N. La mezcla cruda de la reacción se purificó utilizando HPLC de fase inversa semipreparativa (15% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) → 80% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 30 minutos) para producir 35 mg de amida como un sólido después de la neutralización de la sal de TFA.
- 30 LRMS (ES) m/e 432 [MN]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.12 Síntesis de 2-((3-(2-(piperidin-1-il)etoxi)fenil)amino)-9-ciclopentil-8-((2-fluorofenil)amino)-9H-purina



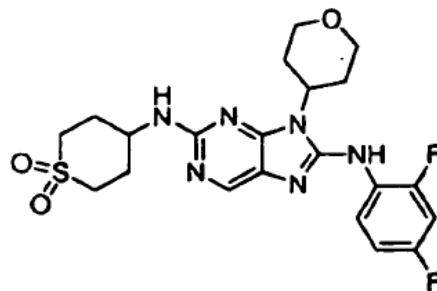
5 En un frasco de base redonda, se disolvió hidróxido de sodio (0,585g, 11,6 mmol) en 10 ml de agua. Se añadieron THF (20 ml), 3-([4-(ciclohexilamino)-5-nitropirimidin-2-il]amino)fenol (1,15g, 3,66 mmol), y hidrocloruro cloruro de piperidil etil (0,81g, 4,39 mmol). La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 55°C durante toda la noche. La reacción se monitoreó por LC-MS. La mezcla de la reacción se vertió en solución acuosa de bicarbonato de sodio y el crudo se extrajo en acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron hasta sequedad. El producto deseado se aisló como un sólido (1,538g, 98% de rendimiento) ES-MS (m/z) 427.3.

Ejemplo 5.13 Síntesis de 8-((2-(4-(2-fluorofenil)amino)purin-2-il)amino)purin-2-il)amino)-2-(4-(2-fluorofenil)amino)-9H-purina



10 El compuesto sustituido con cianoetilo (0,17 mmol) se disolvió en una mezcla de THF:H<sub>2</sub>O (8:2, 10 ml) y se añadió hidróxido de litio (1,05 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a aproximadamente 50°C durante aproximadamente 72 horas. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó utilizando cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>) o HPLC de fase inversa.

15 Ejemplo 5.14 Síntesis de 4-((9-(2-(3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il)8-(2,4-difluorofenil)amino)purin-2-il)amino)tiano-1,1-diona



2H-3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il[5-nitro-2-(tiano-4-ilamino)pirimidin-4-il]amina

20 2H-3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)amina (3,14 mmol, 810,6 mg, obtenido de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina y 4-aminotetrahidropirano siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5.1) y 4-aminotetrahidrotiopirano (3,77 mmol, 441 mg, obtenido siguiendo el procedimiento descrito en la Solicitud internacional PCT WO 2002083642) se disolvieron en DMF (20 ml). Se añadió N,N-diisopropiletilamina (3,77 mmol, 0,67 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se eliminó DMF al vacío y el crudo se sonificó con acetato de etilo. El precipitado se filtró para producir el compuesto del título (992 mg, 93% de rendimiento). ES-MS: 340 (M+ 1).

2H-3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il[5-amino-2-(tiano-4-ilamino)pirimidin-4-il]amina

El compuesto del título (760 mg, 93% de rendimiento) se obtuvo a partir de 2H-3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il[5-nitro-2-(tiano-4-ilamino)pirimidin-4-il]amina (2,63 mmol, 892 mg) por hidrogenación catalítica siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5.1, etapa 3. ES-MS: 310 (M+1).

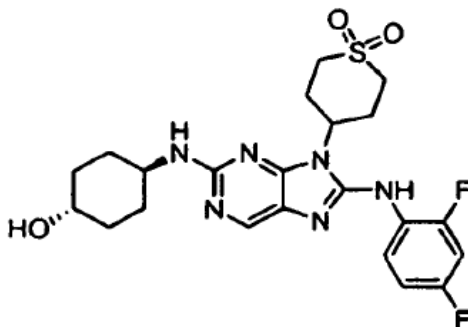
30 [9-(2-(3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il)-2-(tiano-4-ilamino)purin-8-il)(2,4-difluorofenil)amina

El compuesto del título (577,1 mg, 71% de rendimiento) se obtuvo a partir de 2H-3,4,5,6-tetrahidropiran-4-il[5-amino-2-(tian-4-ilamino)pirimidin-4-il]amina (1,81 mmol, 560 mg) y 2,4-difluorofenilisotiocianato siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5.1 etapa 4. ES-MS: 447 (M+1)

4-(9-(2H-3,4,5,6--tetrahidropiran-4-il)-8-(2,4-difluorofenil)amino]purin-2-il)amino)tiano-1,1-diona

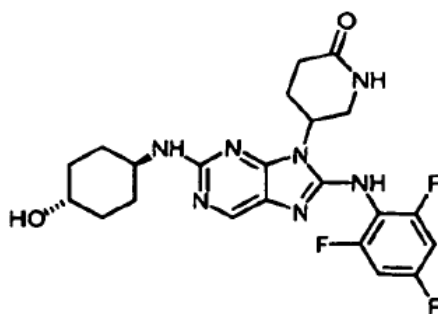
- 5 (9-(2H-3,4,5,6--tetrahidropiran-4-il)2-(tian-4-il)amino)purin-8-il](2,4-difluorofenil)amina (1,2 mmol, 537 mg) se disolvió en cloruro de metileno (15 ml) y se añadieron ácido 3-cloroperoxibenzoico (2,64 mmol, 591 mg). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de la reacción se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se extrajo con cloroformo (3 x 15 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. Se retiró el disolvente al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 10% Metanol/ acetato de etilo) y HPLC de fase inversa (20% acetonitrilo/ agua (0,1% TFA) a 100% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 30 minutos) para producir el compuesto del título (146 mg, 25% de rendimiento). ES-MS: 479 (M+1).

Ejemplo 5.15 Síntesis de 4-(8-[(2,4-difluorafenil)amino]-2-[(4-transhidroxiciclohexil)amina]purin-9-il)iano-1,1-diona

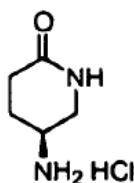


- 15 4-(8-((2,4-difluorofenil)amino)-9-tian-4-ilpurin-2-il)amino)-transciclohexan-1-ol (0,49 mmol, 225 mg), obtenido de 4-aminotetrahidropirano (solicitud internacional PCT WO 2002083642), trans-4-aminociclohexanol y isutiocianato de 2,4-difluorofenilo siguiendo el procedimiento general descrito en el Ejemplo 5.1, se disolvieron en cloruro de metileno (5 ml), y se añadió ácido 3-cloroperoxibenzoico (1,08 mmol, 241 mg). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de la reacción se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (5 ml) y se extrajo con cloroformo (3 x 14 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. Se retiró el disolvente al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, acetato de etilo a 2% metanol/acetato de etilo) y HPLC de fase inversa (20% acetonitrilo/ agua (0,1% TFA) a 100% acetonitrilo/ agua (0,1% TEA) durante 30 minutos) para producir el compuesto del título (88,4 mg, 36% de rendimiento), ES-MS: 493 (M+1).

Ejemplo 5.16 Bloque de construcción involucrado en la síntesis de:



- 25 Hidrocloreto de (5S)-5-aminopiperidin-2-ona



Ácido (2S)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-4-(metoxicarbonil)butanoico

Se añadió éster 5-metilico de ácido L-glutámico (91,3 mmol, 14,7 g) a una solución de trietilamina (274 mmol, 38 ml) en DMF (350 ml). se añadió dicarbonato de di-t-butilo (183 mmol, 40g) y la reacción se agitó a 50°C durante 1 hora y

después a temperatura ambiente durante toda la noche. Se retiró el disolvente al vacío y el material crudo se purificó por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , 1:1 n-hexanos/acetato de etilo a acetato de etilo) para producir el compuesto del título (20,36 g, 85% de rendimiento). ES-MS: 262 (M+1).

(4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]-5-hidroxpentanoato de metilo

- 5 En un frasco de base redonda, se disolvió ácido (2S)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-4-(metoxicarbonil)butanoico (78 mmol, 20,36 g) en THF (300 ml). La solución se enfrió hasta  $-10^\circ\text{C}$  y se añadieron N-metilmorfolina (78 mmol, 8,58 ml) y clorofornato de etilo (78 mmol, 7,48 ml), seguido por borohidruro de sodio (234 mmol, 8,85 g). La reacción se agitó durante 30 minutos a esta temperatura y después se desactivó mediante la adición lenta de solución saturada de cloruro de amonio hasta que no se observó ninguna evolución adicional de hidrógeno. La mezcla de la reacción
- 10 después se extrajo con acetato de etilo y se secó sobre sulfato de magnesio. Después de la filtración, el disolvente se evaporó y el material crudo se purificó por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , 1:1 n-hexanos/ acetato de etilo) para producir el compuesto del título (11,68g, 61% de rendimiento), ES-MS: 248 (M+1).

(4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]-5-(4-metilfenil)sulfoniloxi]pentanoato de metilo

- 15 Se disolvió (4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]-5-hidroxpentanoato de metilo (9,11 mmol, 2,25 g) en 30 ml de cloruro de metileno. Se añadieron cloruro de p-toluenosulfonilo (9,1 mmol, 1,7 g) y trietilamina (27,33 mmol, 3,8 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se retiró el disolvente al vacío y el crudo se purificó por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , 4:1 n-hexanos/ acetato de etilo a 7:3 n-hexanos/ acetato de etilo) para producir el compuesto del título (1,98 g, 54% de rendimiento). ES-MS: 402 (M+1).

(4S)-5-azido-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]pentanoato de metilo

- 20 Se disolvió (4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]-5-[(4-metilfenil)sulfoniloxi]pentanoato de metilo (4,93 mmol, 1,98 g) en DMF (15 ml) y se añadieron azida de sodio (14,8 mmol, 0,961 g). La reacción se calentó a  $50^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La mezcla de la reacción se filtró y el disolvente se eliminó al vacío. El crudo se purificó por cromatografía flash ( $\text{SiO}_2$ , acetato de etilo) para producir el compuesto del título (1,07 g, 80% de rendimiento). ES-MS: 273 (M+ 1).

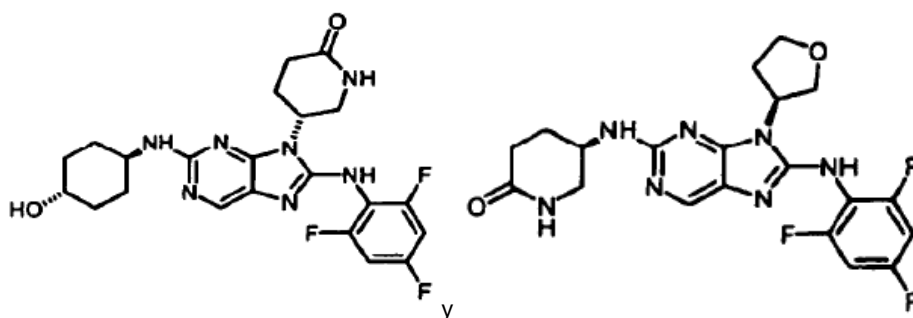
N-((3S)-6-oxo(3-piperidil)(terc-butoxi)carboxamida

- 25 Se disolvió (4S)-5-azido-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]pentanoato de metilo (3,9 mmol, 1,07 g) en metanol (10 ml), y se añadió paladio sobre carbono al 10% (0,1 g). La reacción se agitó durante toda la noche bajo 1 atmósfera de hidrógeno. La reacción se filtró y el disolvente se eliminó al vacío para producir el compuesto del título (0,83 g, 99% de rendimiento). ES-MS: 215 (M+1).

Hidrocloruro de (5S)-5-aminopiperidin-2-ona

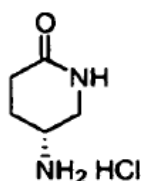
- 30 Se disolvieron N-((3S)-6-oxo(3-piperidil)(terc-butoxi)carboxamida (3,9 mmol, 0,83 g) en etanol (10 ml.) y se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió cloruro de acetilo (2 ml) y se permitió que la reacción alcance temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 1 hora después de lo que el disolvente se eliminó al vacío para producir el compuesto del título (725 mg, 99% de rendimiento) como la sal de hidrocloruro, ES-MS: 115 (M+1).

Ejemplo 5.17 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:



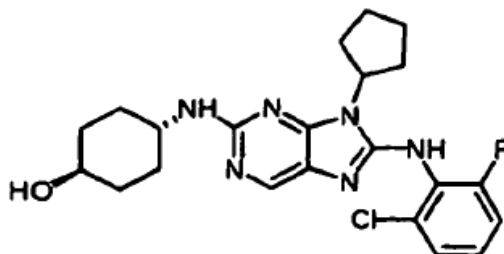
35

Hidrocloruro de (5R)-5-aminopiperidin-2-ona

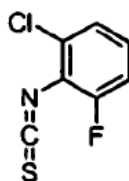


El compuesto del título se preparó tal como se describe en el Ejemplo 5.15. a partir de éster 5-metilico de ácido D-glutámico.

Ejemplo 5.18 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:

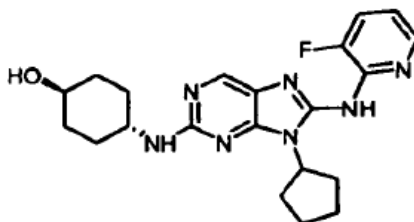


5 Síntesis de 6-cloro-2-fluorobencenoisotiocianato



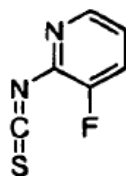
Una solución de 2-cloro-6-fluoroanilina (767 mg, 5,29 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) se añadió en gotas con agitación a una solución de tionocarbonato de di-2-piridilo (2,46 g, 10,58 mmol) en tetrahidrofurano (7 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se agitó durante 60 horas a temperatura ambiente y después el disolvente se evaporó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con pentano. Las fracciones que contenían el producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar el compuesto del título (167 mg, 17%):  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,19-7,23 (m, 1H), 7,12-7,19 (m, 1H), 7,04-7,10 (m, 1H).

Ejemplo 5.19 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:



15

Síntesis de 3-fluoropiridin-2-isotiocianato

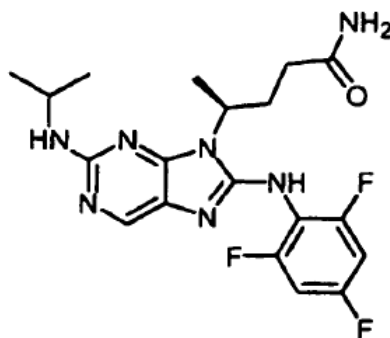


Una solución de 3-fluoro-piridin-2-ilamina (928 mg, 8,28 mmol) en diclorometano (3 ml) se añadió en gotas con agitación a una solución de tiosgeno (1,9 ml, 24,83 mmol) en diclorometano (6 ml) a 0 °C. La mezcla de la reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con diclorometano y bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se separó y la solución acuosa se extrajo 3 veces con diclorometano. Las capas orgánicas se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con acetato de etilo al 10% en hexanos. Las fracciones que contenían el producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar el compuesto del título (479 mg, 37%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,22-8,23 (m, 1H), 7,48-7,52 (m, 1H), 7,21-7,26 (m, 1H).

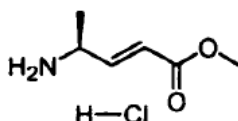
25

Ejemplo 5.20 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:





Síntesis de hidrocloreuro de (2E)(4S)-4-aminopent-2-enoato de metilo



(2S)-2-[(terc-butoxilcarbonilamino)-N-metoxi-N-metilpropanamida

- 5 A una solución de Boc-alanina (20 gramos, 105,7 mmol) en diclorometano (170 ml) se añadió HOBt (14,28 g, 105,7 mmol) e hidrocloreuro de N,O-dimetilhidroxilamina (10,31 g, 105,7 mmol). La mezcla se enfrió con un baño de hielo después se añadieron trietilamina (30 ml, 211,4 mmol) y 1,3-diciclohexilcarbodiimida (21,81g, 105,7 mmol). La reacción se agitó en el baño de agua con hielo durante 1 hora y después se permitió que se caliente hasta temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción después se enfrió en un baño de agua con hielo y el precipitado se filtró. La solución orgánica resultante después se lavó dos veces con hidróxido de sodio acuoso 1N (50 ml), dos veces con ácido cítrico acuoso al 10% (50 ml), y una vez con salmuera. La solución después se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con acetato de etilo al 30-100% en hexanos. Las fracciones que contenían producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar el compuesto del título (20 g, 81%): ES-MS (m/z) 233,2 [M+1]<sup>+</sup>.

(2E)(4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]pent-2-enoato de metilo

- Una solución de (2S)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-N-metoxi-N-metilpropanamida (13,05 g, 56,18 mmol) en éter etílico (560 ml) se enfrió con un baño de agua con hielo y después se añadió hidruro de aluminio y litio al 95 % (2,80 g, 70,23 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos y después se añadió una solución acuosa de hidrógeno sulfato de potasio (300 ml, 0,33M). La mezcla resultante se extrajo tres veces con éter etílico, Las capas orgánicas combinadas se lavaron tres veces con cloruro de hidrógeno 1 N, tres veces con hidrógeno carbonato de sodio acuoso saturado, y una vez con salmuera. La solución después se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el disolvente se evaporó. El sólido resultante se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (430 ml) después se añadió a una solución fría de fosonoacetato de trimetilo (27,3 ml, 168,5 mmol) y hidruro de sodio (112 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (130 ml) que había sido agitado previamente a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se agitó durante 5 minutos en un baño de agua con hielo, a temperatura ambiente durante 20 minutos, y después se añadió agua (500 ml). La mezcla de la reacción se diluyó con salmuera y acetato de etilo, se agitó, y las capas se separaron. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con acetato de etilo al 0-30 % en hexanos. Las fracciones que contenían el producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar el compuesto del título (8,85 g, 69%): ES-MS (m/z) 230,4 (M+1)<sup>+</sup>.

Hidrocloreuro de (2E)(4S)-4-aminopent-2-enoato de metilo

- Una solución de (2E)(4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilaminol]pent-2-enoato de metilo (3,083 g, 13,45 mmol) en cloruro de hidrógeno 4N en dioxano se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los componentes volátiles se evaporaron para dar el compuesto del título (2,2 g, 98 %): ES-MS (m/z) 130,3 (M+1)<sup>+</sup>.

(4S)-4-[(5-amino-2-[(metiletil)amino]pirimidin-4-il)amino]pentanoato de metilo

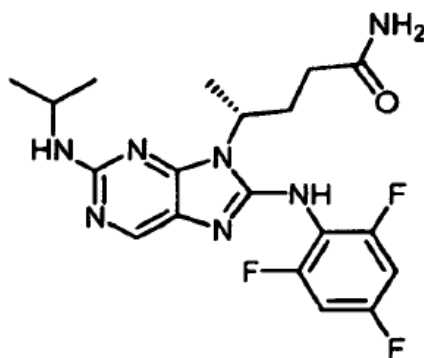
- Una solución de hidrocloreuro de (2E)(4S)-4-aminopent-2-enoato de metilo (1,7 g, 10,31 mmol) en tetrahidrofurano (7 ml) se añadió en gotas a una solución de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (2,0 g, 10,31 mmol) y diisopropiletilamina (3,6 ml, 20,6 mmol) en tetrahidrofurano (17 ml) enfriado a -78 °C. La reacción se agitó a -78 °C durante 1 hora y después a temperatura ambiente durante toda la noche. El disolvente se evaporó y el residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con acetato de etilo al 0-20 % en hexanos. Las fracciones que contenían el producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar 2,35 g de sólido

- blanco. Al sólido se añadieron N,N-dimetilformamida anhidra (40 ml), diisopropiletilamina (1,44 ml, 8,25 mmol), e isopropilamina (0,70 ml, 8,25 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 70 horas, se diluyó con agua, y se extrajo tres veces con diclorometano. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, y el disolvente se evaporó. Al aceite resultante se añadió etanol anhidro (50 ml) y paladio sobre carbono al 10% (200 mg). La solución se trató con hidrógeno gaseoso desde un globo y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de la reacción se filtró y el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto del título (2,24 g, 77 %): ES-MS (m/z) 282 [M+1]<sup>+</sup>.

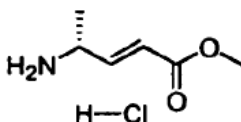
(4S)-4-{2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)aminopurin-9-il]pentanamida

- Una solución de (4S)-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)aminopurin-9-il]pentanoato de metilo (500 mg, 1,15 mmol) en metanol anhidro (25 ml) a -78 °C se saturó con amoníaco gaseoso. La solución se selló en un tubo de reacción y se permitió que se caliente hasta temperatura ambiente seguido por calentamiento a 40°C durante 2 días. El disolvente se evaporó y el residuo resultante se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de fase normal con acetato de etilo al 70-100 % en hexanos. Las fracciones que contenían el producto limpio se combinaron y el disolvente se evaporó para dar el compuesto del título (223 mg, 46 %): ES-MS (m/z) 422,3 [M+1]<sup>+</sup>.

- 15 Ejemplo 5.21 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de



Síntesis de hidrocloreto de (2E)(4R)-4-aminopent-2-enoato de metilo



(2R)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-N-metoxi-N-metilpropanamida

- 20 El compuesto del título se preparó como (2S)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-N-metoxi-N-metilpropanamida con boc-D-alanina (20 gramos, 105,7 mmol) para dar el compuesto del título (21,7 g, 88%): ES-MS (m/z) 233,2 [M+1]<sup>+</sup>.

(2E)(4R)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]pent-2-enoato de metilo

- 25 El compuesto del título se preparó como (2E)(4S)-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]pent-2-enoato de metilo con (2R)-2-[(terc-butoxi)carbonilamino]-N-metoxi-N-metilpropanamida (13,05 gramos, 56,18 mmol) para dar el compuesto del título (10,2 g, 79 %): ES-MS (m/z) 230 [M+1]<sup>+</sup>.

Hidrocloreto de (2E)(4i)-4-aminopent-2-enoato de metilo

Una solución de (2E)(4R)-4-(terc-butoxi)carbonilamino]pent-2-enoato de metilo (3,61 g, 35,75 mmol) en cloruro de hidrógeno 4N en dioxano se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los componentes volátiles se evaporaron para dar el compuesto del título (2,6 g, 98 %): ES-MS (m/z) 130,3 (M+1)<sup>+</sup>.

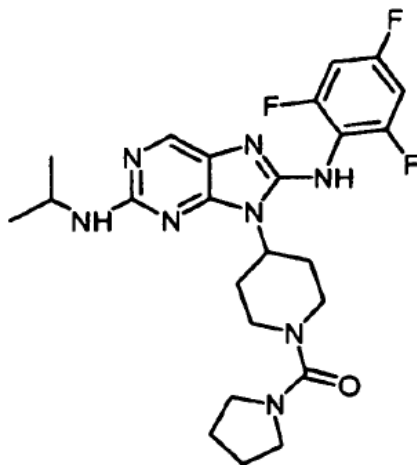
- 30 (4R)-4-[(5-amino-2-[(metiletil)amino]pirimidin-4-il) amino]pentanoato de metilo

El compuesto del título se preparó como (4S)-4-[(5-amino-2-[(metiletil)amino]pirimidin-4-il)amino]pentanoato de metilo con hidrocloreto de (2E)(4R)-4-aminopent-2-enoato de metilo (1,7 g, 10,31 mmol) para dar el compuesto del título (2,17 g, 75 %): ES-MS (m/z) 282 (M+1)<sup>+</sup>,

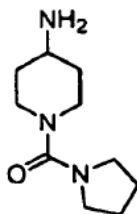
(4R)-4-{2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)aminopurin-9-il]pentanamida

- 35 El compuesto del título se preparó como (4S)-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)aminopurin-9-il]pentanamida con (4R)-4-{2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)aminopurin-9-il]pentanoato de metilo (500 mg, 1,15 mmol) para dar el compuesto del título (273 mg, 57%): ES-MS (m/z) 422,3 (M+1)<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.22 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:



Síntesis de 4-aminopiperidilpirrolidinil cetona



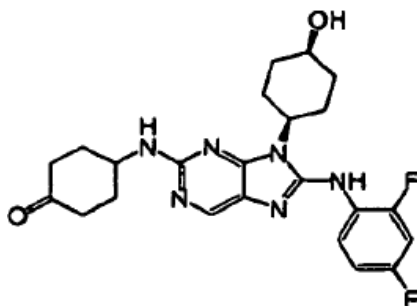
5 (terc-butoxi)-N-[1-(pirrolidinilcarbonil)(4-piperidil)]carboxamida

Se disolvió carbonilcloruro de 1-pirrolidina (1,10 g, 9,99 mmol) en 400 ml de diclorometano bajo N<sub>2</sub>. Se añadieron (terc-butoxi)-N-(4-piperidil)carboxamida (2,0 g, 9,99 mmol) y trietil amina (1,40 ml, 9,99 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó durante tres días. La reacción se desactivó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se evaporó para dar el producto como un sólido blanco, (2,63 g, 8,84 mmol, 89 %),

4-aminopiperidil pirrolidinil cetona

Se disolvió (terc-butoxi)-N-[1-(pirrolidinilcarbonil)(4-piperidil)]carboxamida (2,0 g, 6,73 mmol) en 40 ml de diclorometano y se añadieron ácido trifluoroacético (15 ml, 201,94 mmol). La mezcla de la reacción se agitó durante 4 horas. El disolvente se evaporó para dar el producto como un semisólido marrón claro, que se utilizó directamente para la siguiente etapa. (2,09 g, 6,73 mmol, 100 %).

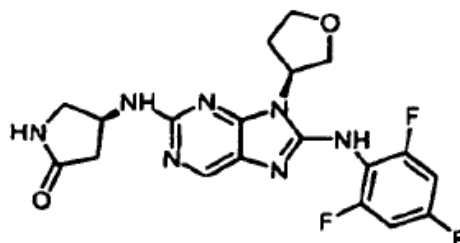
Ejemplo 5.23 Síntesis de 4-((R)-8-(2,4-difluoro-fenilamino)-9-(4-hidroxi-ciclohexil)-7H-purin-2-ilamino]-ciclohexanona



Se disolvió 4-((R)-8-(2,4-difluoro-fenilamino)-2-(1,4-dioxa-spiro[4,5]dec-8-ilamino)-7H-purin-9-il]-ciclohexanol (0,62 g, 1,7 mmol) en 25 ml de cloruro de metileno bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. Después se añadió ácido trifluoroacético (5 ml) en gotas a través del embudo de adición. Después de agitar durante 24 horas la mezcla de reacción resultante se concentró bajo presión reducida. Se añadió bicarbonato de sodio saturado al residuo resultante hasta pH 12. La capa acuosa básica después se extrajo utilizando cloroformo (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con MgSO<sub>4</sub>. El producto crudo después se purificó en HPLC preparatoria utilizando CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O al 5-70% durante 39 minutos de procedimiento. Las fracciones mayores de 98% de pureza a través de HPLC analítica se

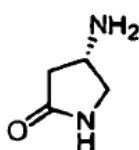
combinaron y se concentraron. El ácido trifluoroacético en exceso se eliminó lavando el producto con carbonato de potasio 1,75 M (3 x 100 ml). Las capas orgánicas después se concentraron hasta sequedad al vacío para dar la cetona (0,015g 0,033 mmol, 12 %) como un polvo blanco fino: LC-MS (m/z) 457,1 [M+1]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.24 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:



5

Síntesis de (S)-4-amino-2-pirrolidinona



(S)-(-)-4-azido-2- pirrolidinona

10 A una solución enfriada con hielo de (R)-(+)-4-hidroxi-2-pirrolidinona (25,0 g, 247 mmol) en diclorometano (300 ml) se añadió trietilamina (17,0 g., 168,7 mmol) y cloruro de metano sulfonilo (21 ml, 272 mmol) en gotas. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se monitoreó a través de TLC (acetato de etilo al 100% utilizando mancha de permanganato). La solución después se condensó bajo presión reducida para dar un sólido. El sólido se diluyó con DMF (300 ml) seguido por la adición de azida de sodio (48,24 g., 742 mmol). La solución se calentó hasta 60°C durante 3 horas. La reacción se monitoreó a través de TLC (acetato de etilo al 100% utilizando mancha de permanganato). La solución después se condensó bajo presión reducida y el aceite resultante se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (50-80% acetato/hexanos seguido por metanol/diclorometano al 12%) para producir el compuesto del título (10,2 g, 32%) <sup>1</sup>H- RMN (CD<sub>3</sub>OD) δ 4,43 (m, 1H), 3,71 (dd, 1H), 3,34 (m, 1H), 2,75 (dd, 1H), 2,29 (dd, 1H).

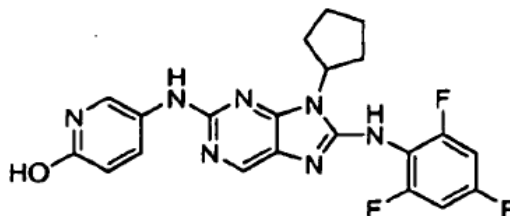
15

(S)-(-)-4-amino-2-pirrolidinona

20 A una solución de (S)-(-)-4-azida-2-pirrolidinona (10,2 g., 80,8 mmol) en THF (450 ml) se añadió trifetilfosfina unida a la resina (40,5 g, 3 mmol de compuesto/1,0g resina). La solución se calentó hasta 60°C durante dos horas. La evolución de nitrógeno gaseoso de la solución es un indicador del avance de la reacción. La reacción se monitorea por TLC y mancha de permanganato para la finalización. La solución se filtró a través de filtro de vidrio poroso y el producto unido a la resina después se añade a otro recipiente de reacción y se diluye con agua (500 ml). La solución se calentó hasta 70°C durante dieciséis horas. La solución se filtró a través de un filtro de vidrio poroso y el filtrado acuoso se condensó bajo presión reducida y se agregó tolueno a continuación (3X) para producir el compuesto del título al vacío (5,62 g, 62%). <sup>1</sup>H- RMN (CD<sub>3</sub>OD) δ 3,68 (m, 1 H), 3,56 (m, 1 H), 3,04 (m, 1H), 2,54 (m, 1H), 2,05 (m, 1H).

25

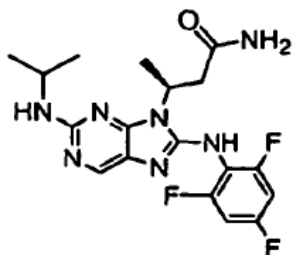
Ejemplo 5.25 Síntesis de 5-[9-ciclopentil-8-(2,4,6-trifluorofenilamino)-9H- purin-2-ilamino]piridina-2-ol



30

35 Se disolvió 9-ciclopentil-N2-(6-metoxipiridin-3-il)-N8-(2,4,6-trifluorofenil)-9H-purina-2,8-diamina (0,350 g, 0,769 mmol) en 30% HBr/ácido acético en un tubo sellado y se calentó hasta 80°C durante 16 horas. El producto se confirmó por LC-MS. La solución se dividió entre carbonato de potasio 1,75 M y acetato de etilo (3X). Los componentes orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El sólido resultante se purificó a través de HPLC preparativa (5-55% acetonitrilo/agua, 20ml/min.) para producir el compuesto del título (0,212 g, 34%). ES-MS (m/z) 442 [M+1]<sup>+</sup>. Punto de fusión 257-260°C.

Ejemplo 5.26 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de (S)-3-[8-(2,4-trifluoro-fenilamino)-2-isopropilamino-purin-9-il]-butiramida



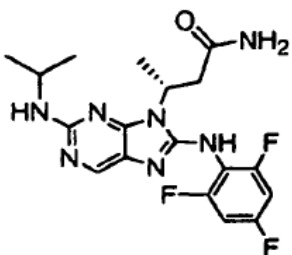
Hidrocloreto de (S)-(-)-3-aminobutiramida

- 5 A una solución de ácido (3S)-3-(terc-butoxicarbonil)amino)butanoico (2 g, 9,8 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se añadió HBTU (4,8 g, 12,7 mmol), cloruro de amonio (2.6 g, 49 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se enfrió hasta 0°C y diisopropiletil amina (10.0 g, 78 mmol). El baño de agua con hielo se eliminó y la mezcla marrón se agitó bajo nitrógeno durante 12 horas. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se disolvió en diclorometano (100 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa de carbonato de sodio (saturada). La fase orgánica se secó con salmuera seguido por sulfato de sodio, que posteriormente se filtró. La fase orgánica se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice de fase normal (50% etil acetato de etilo/hexano seguido por 10 % metanol/diclorometano) para producir fracciones parcialmente purificadas, que se combinaron y se utilizaron en la siguiente reacción. La amida cruda se disolvió en 10 ml de dioxano seco y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo/agua. Se añadió en gotas HCl 4N en solución de dioxano (12,2 ml, Aldrich) y la mezcla se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó al vacío para producir sólido aceitoso que no se purificó más pero se suspendió en THF (5 ml). Se añadió diisopropiletil amina (2,53 g, 19,6 mmol) para crear una suspensión.

(S)-3-[2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-ilamino]-butiramida

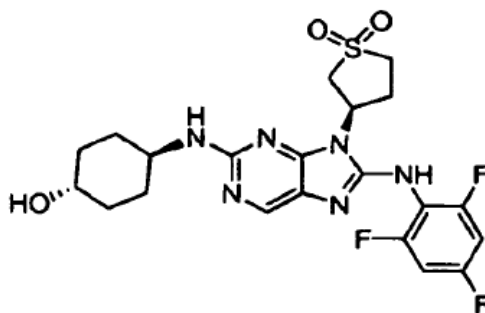
- 20 Se añadió 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (1,9 g, 9,8 mmol) a un frasco de base redonda de 100 ml secado con horno y se añadió THF (27 ml) para producir una solución. La mezcla se enfrió hasta -78°C bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió en gotas la suspensión (etapa A). La mezcla de la reacción se agitó a -78°C durante 30 minutos y después se calentó hasta temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió agua (10 ml) a la mezcla y el componente orgánico, se retiró el disolvente al vacío. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml) y la fase orgánica resultante se secó con salmuera. La fase orgánica se concentró hasta un residuo. La cromatografía en gel de sílice de fase normal (5-50% acetato de etilo/hexano) del residuo dio el compuesto del título (761 mg, 30% en general): ES-MS (m/z) 260,0 (M+1)<sup>+</sup>. El intermediario se empleó de acuerdo al procedimiento estándar para proporcionar (S)-3-(8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-2-isopropilamino-purin-9-il)-butiramida.

Ejemplo 5.27 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de (R)-3-[8-(2,4,6, trifluoro-fenilamino)-2-isopropilamino-purin-9-il]-butiramida



- 30 (R)-3-(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-ilamino)-butiramida se preparó en forma similar (586 mg, 23% de rendimiento general): ES-MS (m/z) 260,0 [M+1]<sup>+</sup>. El intermediario se empleó de acuerdo al procedimiento estándar para proporcionar (R)-3-(8-(2,4,6-trifluorofenilamino)-2-isopropilamino-purin-9-il)-butiramida.

Ejemplo 5.28 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de 4-[9-(R)-1,1-dioxotetrahidro-1λ6-tiofen-3-il]-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]-ciclohexanol



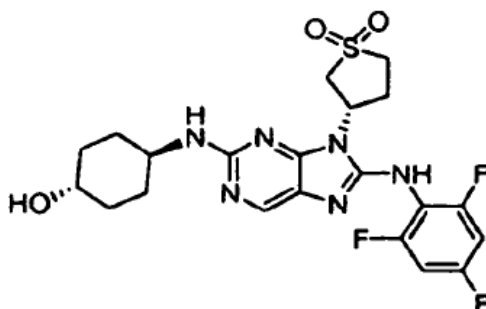
#### Preparación de hidrocloreto de (R)-tetrahidro-3-tiofenoamina

Se realizó la síntesis del compuesto del título de acuerdo a Dehmlow, E.V et al. Synthesis 1992, 10, 947-9. Se empleó hidrocloreto de amina en la forma habitual para producir 4-[(R)-9-tetrahidro-tiofen-3-il-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol.

#### Síntesis de 4-[9-(R)-1,1-dioxo-tetrahidro-1λ6-tiofen-3-il]-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol

4-[(R)-9-tetrahidro-tiofen-3-il-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol (100 mg, 0,21 mmol) se disolvió en MeOH (1 ml) y la mezcla se enfrió hasta 0°C con baño de hielo/agua. Se disolvió ozono (338 mg, 0,52 mmol) en agua (1 ml) y la solución se añadió en gotas a la mezcla anterior a 0°C con agitación enérgica. El baño después se eliminó y la mezcla turbia se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla se añadió a diclorometano (100 ml) y la fase orgánica se lavó con carbonato de sodio (acuoso), salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Después de la filtración, el disolvente se eliminó y el residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice (5-10% cloruro de metileno/metanol) para producir sulfona (59 mg, 57%): ES-MS (m/z) 497,0 [M<sup>+</sup>1]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.29 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de 4-[9-(S)-1,1-dioxo-tetrahidro-1λ6-tiofen-3-il]-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9N-purin-2-ilamina-ciclohexanol



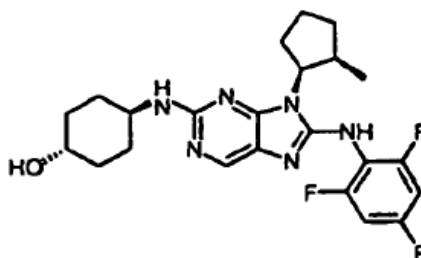
#### Preparación de hidrocloreto de (S)-tetrahidro-3-tiofenoamina

La síntesis del compuesto del título se realizó de acuerdo a Dehmlow, E.V.; Westerheide, R.; Synthesis 1992, 10, 947-9. Se empleó hidrocloreto de amina en la forma habitual para producir 4-[(S)-9-tetrahidro-tiofen-3-il-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol,

#### Síntesis de 4-[9-(N)-1,1-dioxo-tetrahidro-1λ6-tiofen-3-il]-8-(2,4,6-trifluorofenilamino)9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol

La síntesis de sulfona se realizó en forma similar para producir 4-[9-(S)-1,1-dioxotetrahidro-1λ<sup>6</sup>-tiofen-3-il]-8-(2,4,6-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]ciclohexanol (51 mg, 49%): ES-MS (m/z) 497,0 [M+1]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.30 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:

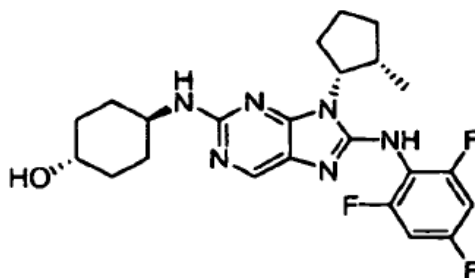


Síntesis de 4-[9-(((1S,2R)-2-metil-ciclopentil)-8-[2,4,6-trifluorofenilamino]-9H-purin-2-ilamino]-ciclohexanol

Preparación de hidrocloreto de ciclopentanamina,2-metilo (1S,2R)- (9Cl)

La síntesis del compuesto del título se realizó de acuerdo a Wiehl, W.; Frahm, A. W.; Chemiche Berichte 1986 119(8), 2668-77. Se empleó hidrocloreto de amina en la forma habitual.

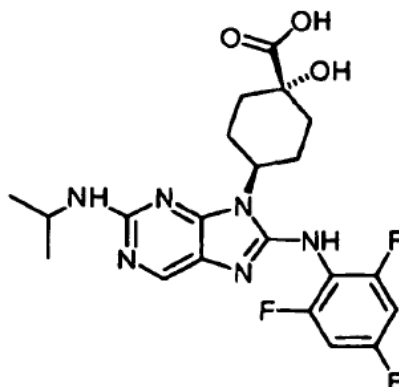
- 5 Ejemplo 5.31 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de 4-[9-((1R,2S)-2- metil-ciclopentil)-8-(2,4,6,-trifluoro-fenilamino)-9H-purin-2-ilamino]-ciclohexanol



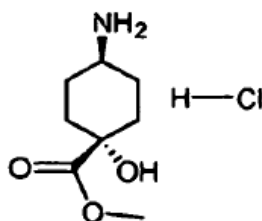
Preparación de hidrocloreto de ciclopentanamina,2-metilo (1R,2S)- (9Cl)

- 10 La síntesis del compuesto del título se realizó de acuerdo a Wiehl, W.; Frahm, A. W.; Chemiche Berichte 1986 119(8), 2668-77. Se empleó hidrocloreto de amina en la forma habitual.

Ejemplo 5.32 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de;



Síntesis de hidrocloreto de 4-amino-1-hidroxiciclohexanocarboxilato de metilo.



- 15 ((1S)-1-feniletil)(1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il-amina

1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-ona (10g, 64,03 mmol) se disolvió en dicloroetano seco (300 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió (1S)-1-feniletilamina pura (8,96 ml, 70,43 mmol) a temperatura ambiente seguido por triacetoxiborohidruro de sodio puro (20,36 g, 96,04 mmol) en porciones pequeñas. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La reacción se desactivó mediante la adición de agua destilada (200 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Se obtuvo un aceite amarillo de pureza satisfactoria en base a (11,2g, 67% de rendimiento). M+1: 262.

N-((1S)-1-feniletil)-N-(1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il)-2,2,2-trifluoroacetamida

- 25 ((1S)-1-feniletil)(1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il)amina (11,2g, 42,85 mmol) se disolvió en diclorometano (135 ml) a temperatura ambiente. La solución se trató con piridina (3,81 ml, 47,14 mmol) y anhídrido trifluoroacético (7,15 ml,

51,42 mmol). La reacción se agitó durante el fin de semana a temperatura ambiente. La finalización de la reacción se confirmó mediante LC-MS. La reacción se lavó con cloruro de amonio saturado. Después del secado sobre sulfato de sodio, los extractos orgánicos se concentraron hasta un aceite amarillo. El crudo se utilizó sin purificación adicional.

5 N-((1S)-1-feniletil)-2,2,2-trifluoro-N-(4-oxociclohexil)acetamida

N-((1S)-1-feniletil)-N-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)-2,2,2-trifluoroacetamida (15,31g, 42,84 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (30 ml). La solución se trató con 30 ml de HCl acuoso 3,0 N. La reacción se calentó hasta 50-60 °C durante 48 horas. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, THF se eliminó bajo presión reducida. El producto crudo se extrajo con diclorometano y se purificó mediante columna de gel de sílice (eluyente acetato de etilo al 15-20% en hexanos). El producto se aisló como un aceite amarillo (5,49 g, 41% de rendimiento) M+1: 314.

10 N-((1S)-1-feniletil)-N-(4-(1,1-dimetil-1-silanotoxi)-4-cianociclohexil)-2,2,2-trifluoroacetamida

N-((1S)-1-feniletil)-2,2,2-trifluoro-N-(4-oxociclohexil)acetamida (3,8g, 12,13 mmol) se disolvió en 30 ml de diclorometano.  $ZnI_2$  (0,774g, 2,42 mmol) se añadió a la solución como un sólido a temperatura ambiente seguido por cloruro de trimetilsililo (3,25 ml, 24,25 mmol). La mezcla de la reacción se calentó hasta temperatura de reflujo. La conversión se monitoreó por LC-MS. Después de 4 horas, se interrumpió el calentamiento y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Se añadieron 50 ml de éter dietílico seco. La suspensión turbia resultante se evaporó hasta sequedad. El aceite naranja resultante se re-suspendió en 100 ml de éter dietílico. Una pequeña cantidad de sólido blanco se eliminó por filtración y se lavó con un pequeño volumen de éter dietílico. Los filtrados combinados se evaporaron hasta sequedad y el residuo se mantuvo bajo vacío alto durante toda la noche. El producto se utilizó sin purificación adicional (5,64g). M+1: 413.

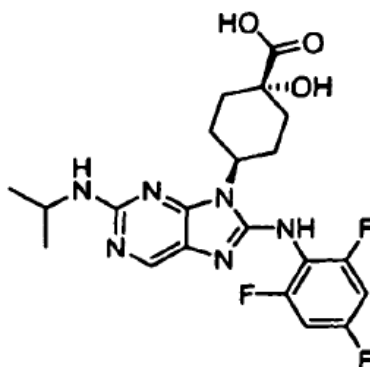
15 4-(N-((1S)-1-feniletil)-2,2,2-trifluoroacetilamino)-1-hidroxiciclohexanocarboxamida

N-((1S)-1-feniletil)-N-[4-(1,1-dimetil-1-silaetoxi)-4-cianociclohexil]-2,2,2-trifluoroacetamida (5,64 g, 13,67 mmol) se suspendió en 15 ml de ácido clorhídrico concentrado. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 días dando como resultado la formación de una suspensión naranja oscuro. El sólido se recolectó por filtración, se disolvió en 10 ml de metanol bajo temperatura suave y lentamente se precipitó con agua. (sólido con color claro que se separa de la solución naranja). La aguas madres se recolectaron, se concentraron y las condiciones de precipitación se reprodujeron. La etapa de aislamiento produjo 2,6 g totales de sólido amarillo claro (53 %) limpio por  $^1H$  y  $^{19}F$  RMN. M+1: 359.

20 Hidrocioruro de metil-cis-4-amino-1-hidroxiciclohexanocarboxilato

30 Se suspendió 4-[N-((1S)-1-feniletil)-2,2,2-trifluoroacetilamino]-1-hidroxiciclohexanocarboxamida (2,6 g, 7,25 mmol) en 30 ml de ácido clorhídrico concentrado y la mezcla de la reacción se calentó hasta 80°C durante 6 horas (solución amarillo claro). La finalización de la reacción se evaluó por LC-MS. La mezcla de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadieron 40 ml de metanol. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 36 horas. Se eliminó metanol bajo presión reducida. Los subproductos orgánicos se eliminaron mediante extracción en éter dietílico. La solución acuosa se concentró bajo presión reducida y el residuo se secó durante toda la noche. Se aisló hidrocioruro de metil-cis-4-amino-1-hidroxiciclohexanocarboxilato como un sólido y se utilizó sin purificación adicional. (rendimiento cuantitativo).

35 Ejemplo 5.33 Síntesis de ácido 1-hidroxi-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexanocarboxílico

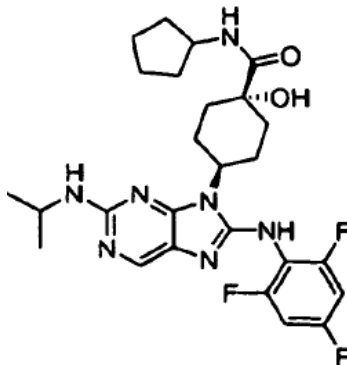


40 Se disolvió 1-hidroxi-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (1,858 g, 3,858 mmol) en 27 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 4,0 N. La mezcla de la reacción se calentó hasta 60°C durante 24 horas. La mezcla después se concentró bajo presión reducida hasta un aceite y se purificó mediante HPLC preparativa (20-80 % acetonitrilo-agua, 0,1 % TFA). El producto se aisló como un sólido blanco por filtración después de la evaporación de acetonitrilo de la fracción combinadas y la neutralización con hidróxido de



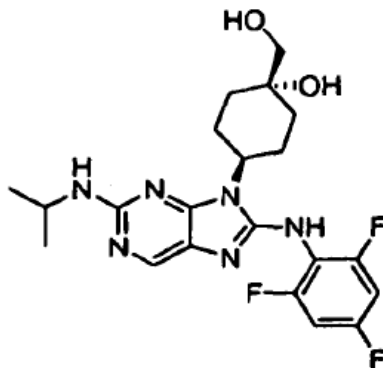
amonio concentrado. (1,325 g, 73 % de rendimiento).

Ejemplo 5.34 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de N-ciclopentil(1-hidroxi-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexil)carboxamida



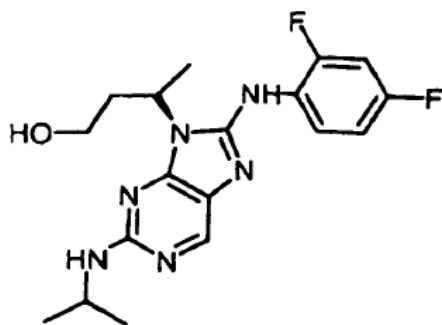
- 5 Se disolvió ácido 1-hidroxi-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexanocarboxílico (0,200 g, 0,4 mmol) en 4 ml de THF seco. Se añadió ciclopentil amina pura (0,079 ml, 0,8 mmol) seguido por di-isopropil amina (0,105 ml, 0,6 mmol). Se añadió hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (BOP) último, como un sólido en una porción a temperatura ambiente (0,177 g, 0,4 mmol). La reacción estaba completa dentro de los 10 minutos según lo confirmado por LC-MS. Se eliminó DMF bajo presión reducida. El residuo se trituró en bicarbonato de sodio acuoso saturado. El sólido beige resultante se recolectó por filtración y se lavó con agua. El producto crudo se recrystalizó a partir de metanol-agua caliente. Los cristales se secaron en horno al vacío. (141 mg, 66 % de rendimiento) M+1: 532.

Ejemplo 5.35 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de 1-(hidroximetil)-4-(2-((metiletil)amino)-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexan-1-ol

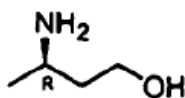


- 15 Se disolvió 1-hidroxi-4-(2-[(metiletil)amino]-8-[(2,4,6-trifluorofenil)amino]purin-9-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (0,300 g, 0,6 mmol) en 3 ml de metanol seco. La solución se enfrió hasta 0°C antes de la adición de borohidruro de sodio sólido (0,300 g, 7,92 mmol). Después de 1 hora a baja temperatura, la reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La reacción se desactivó con 5 ml de una solución saturada de cloruro de amonio. El producto crudo se extrajo con diclorometano (cuatro veces). El producto se purificó por cromatografía en columna (acetato de etilo al 75 % en hexanos) seguido por HPLC semi-preparativa. Las fracciones se neutralizaron utilizando una columna de intercambio de resina (0,101 g, 37 % de rendimiento). M+1: 451.

Ejemplo 5.36 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de:



Síntesis de (3R)-3-aminobutanol



terc-butil(3R)-3-(bencil[(1R)-1-feniletil]amino)butanoato.

- 5 n-BuLi (29,5 ml, 47,3 mmol) se añadió a través de cánula a una solución de (R)-(N-bencil)[N-(1-fenil)etil]amina (10,0 g, 47,3 mmol) en THF (75 ml) a 0°C bajo N<sub>2</sub>. La reacción se agitó durante 20 minutos, y posteriormente se enfrió hasta -78 °C. Crotonato de terc-butilo (3,5g, 24,6 mmol) disuelto en THF (30 ml) se añadió a la mezcla de reacción fría durante 20 minutos. Después de 75 minutos, la reacción se desactivó con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado y después se añadió salmuera. Las capas se separaron y la capa acuosa además se extrajo con Et<sub>2</sub>O. Los componentes orgánicos se combinaron, se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron hasta un aceite crudo amarillo.
- 10 El producto crudo se disolvió en hexanos (100 ml) y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 10% (3 x 25 ml). Los componentes orgánicos se dividieron, se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se condensaron para producir 6,2 g (17,55 mmol, 37 %) del compuesto del título.

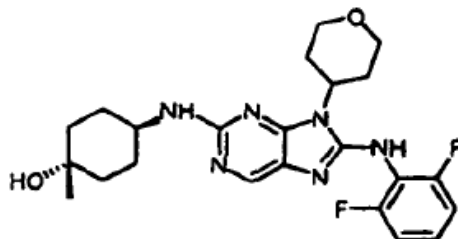
(3R)-3-(bencil(1R)-1-feniletil]amino)butanol

- 15 Se disolvió (3R)-3-{bencil[(1R)-1-feniletil]amino}butanoato de terc-butilo (6,2 g, 17,6 mmol) en THF (100 ml). el frasco de 1 litro se purgó con N<sub>2</sub> y se enfrió hasta 0°C. Lentamente se añadió hidruro de aluminio y litio (2,7 g, 69,8 mmol) durante 5 minutos. Se permitió que la reacción de agite a 0°C durante 1 hora, y después se calentó hasta 60°C durante 1 hora. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con Et<sub>2</sub>O (500 ml). Esta solución se desactivó con una mezcla de celite: Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 H<sub>2</sub>O (1:1) añadida durante 15 minutos. La solución después se filtró y las aguas madres se condensaron para producir 3,9g (13,8 mmol, 78 %) del compuesto del título.
- 20

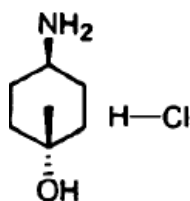
3R)-3-aminobutanol

- Se disolvió (3R)-3-(bencil[(1R)-1-feniletil]amino)butanol (3,9 g, 13,8 mmol), en metanol (60 ml). Se añadió catalizador de Pearlman a la reacción y posteriormente se presurizó hasta 30 psi con H<sub>2</sub> en un agitador Parr. Después de 24 horas, la reacción se filtró a través de celite y se lavó adicionalmente con metanol (150 ml). La mezcla se condensó para producir 1,2 g (13,4 mmol) del producto del título.
- 25

Ejemplo 5.37 Bloque de construcción utilizado para la síntesis de



Síntesis de trans-4-amino-1-metilciclohexanol



trans-4-dibencilaminociclohexanol

5 A una solución de trans-4-aminociclohexanol (7,90 g, 68,5 mmol) en acetonitrilo (150 ml), se añadió carbonato de cesio (51,4 g, 157,5 mmol) y bromuro de bencilo (18,2 g, 143,8 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La solución se completó mediante LC-MS y la mezcla se filtró a través de un filtro frit, se lavó con acetonitrilo adicional, y se condensó bajo presión reducida. El sólido se dividió entre agua y diclorometano (500 ml) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y de eliminó el disolvente bajo presión reducida para producir el compuesto del título (17,14 g, 85 %). ES-MS (m/z) 296,5 [M+1]<sup>+</sup>.

trans-4-dibencilaminociclohexanona

10 Cloruro de oxalilo (12,89 g, 101,1 mmol) en diclorometano (200 ml) se enfrió hasta -78°C. Se añadió DMSO (14,5 mL) en diclorometano (25 ml) mediante embudo de adición lentamente durante 10 minutos hasta que el burbujeo cesó. trans-4-Dibencilaminociclohexanol (17,14 g., 58,10 mmol) en diclorometano (150 ml) después se vertió lentamente. Después de 30 minutos, después se añadió trietilamina (56 ml) en gotas y después la solución se agitó a temperatura ambiente. La reacción se monitoreó a través de TLC para asegurar el consumo del material de partida. La solución después se condensó bajo presión reducida y se dividió entre agua y acetato de etilo. Los componentes orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El aceite resultante se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo al 30 % /hexanos) para producir el compuesto del título (13,71 g, 81 %). ES-MS (m/z) 294 [M+1]<sup>+</sup>.

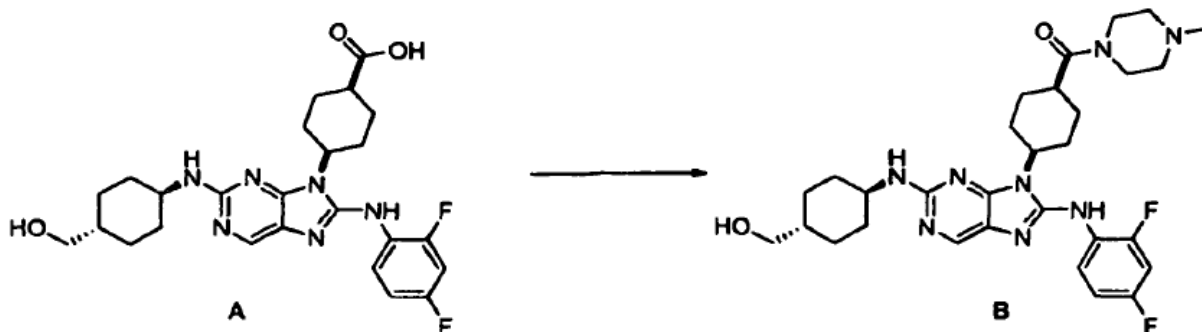
trans-4-dibencilamino-1-metilciclohexanol

20 A una solución de trans-4-dibencilaminociclohexanona (1,40 g, 4,77 mmol) en THF a 0°C (40 ml) se añadió a solución de bromuro de metilmagnesio 3,0 M en THF (6,36 ml, 19,1 mmol) en gotas. La solución se permitió que se caliente hasta temperatura ambiente y se permitió que se agite durante 16 horas. La solución se desactivó con solución saturada de cloruro de amonio y se dividió entre agua y acetato de etilo (tres veces). Los componentes orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se eliminó el disolvente bajo presión reducida. El aceite resultante se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo al 15%/hexanos) para producir el compuesto del título (2,21 g, 17 %). ES-MS (m/z) 310,6 (M+1)<sup>+</sup>.

trans-4-amino-1-metilciclohexanol

30 A una solución de trans-4-dibencilamino-1-metilciclohexanol (2,21 g, 7,15 mmol) en etanol (50 ml) se añadió hidróxido de paladio (0,663 g, 30 % en peso). La solución se enjuagó con hidrógeno gaseoso fresco y se permitió que se agite a temperatura ambiente durante 16 horas. El consumo del material de partida se confirmó a través de LC-MS. La solución se filtró a través de celite y se lavó con acetato de etilo adicional. El filtrado se condensó bajo presión reducida para producir el compuesto del título (cuantitativo). ES-MS (m/z) 130,4 [M+1]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5.38 Acoplamiento a amidas



35 La reacción de acoplamiento a amidas según lo expuesto más arriba puede lograrse mediante los Procedimientos A-C descritos más abajo.

Procedimiento A; HATU

- 5 Se disolvió 0,164g (0,30 mmol) de A en 5 ml de DMF y se añadió 0,140g (1,2 equivalentes) de HATU en un lote. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió 0,040 g (1,2 equivalentes) de N-metilpiperazina y la se continuó agitación durante toda la noche. La mezcla de la reacción se purificó utilizando cromatografía preparativa utilizando un gradiente de 15-110% acetonitrilo/agua (0,1% TFA). Después de analizar las fracciones mediante HPLC, se combinaron las fracciones puras y se concentraron hasta la sal de TFA. Se intercambia TFA utilizando HCl 1 N y el TFA se extrajo (10x10 ml) utilizando éter. Con la neutralización de la capa acuosa, la base libre se trituró y se recolectó y se secó para dar 0,020g de B en 10% de rendimiento.

Procedimiento B: HATU/HBTU

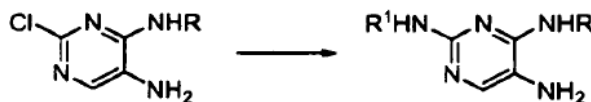
- 10 Una solución de A (1 mmol) en 10ml DMF (0,1 M) se trató con 1,2 equivalentes de HATU o HBM (1,2 mmol) y se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas y se añadió 1,2 equivalentes de N-metilpiperazina (1,2 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de concentrar la mezcla de la reacción, la misma se purificó utilizando cromatografía preparativa. Las fracciones limpias se combinaron y se concentraron hasta la sal TFA. Se intercambia TFA utilizando HCl 1 N y el TFA se extrajo con éter. Finalmente, la sal de HCl se obtuvo con la concentración de la capa acuosa.

Procedimiento C: HOBT/EDCI

- 20 Una solución de A (1 mmol) en 10ml DMF (0,1 M) se trató con 2,0 equivalentes de HOBT (2,0 mmol), 2,4 equivalentes de EDCI (2,4 mmol), 2,4 equivalentes de N-metilpiperazina (2,4 mmol) y se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de concentrar la mezcla de la reacción, la misma se purificó utilizando cromatografía preparativa. Las fracciones limpias se combinaron y se concentraron hasta la sal de TFA. Se intercambia TFA utilizando HCl 1 N y el TFA se extrajo con éter. Finalmente, la sal de HCl se obtuvo con la concentración de la capa acuosa.

Ciertos intermediarios y reactivos útiles en la preparación de los compuestos aminopurina pueden prepararse tal como se describe en los Ejemplos 5.15 a 5.29, más abajo.

- 25 Ejemplo 5.39 Anilinas pobres en electrones

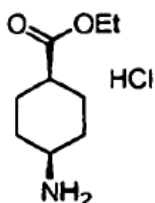


El compuesto de cloropirimidina se disuelve en ácido acético y se añade la anilina correspondiente. La reacción se agita durante toda la noche a temperatura ambiente. Se añade agua a la mezcla de la reacción hasta que se forma el precipitado. El precipitado se filtra y se seca bajo vacío elevado.

- 30 Ejemplo 5.40 Acilación/Mesilación/Cloroformilación de Aminas

- 35 Una amina se suspende en cloruro de metileno y se añade trietilamina. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta que se obtiene una solución clara. Se añade cloruro de acilo correspondiente, cloruro de metanosulfonilo o clorofomato de metilo y la mezcla de la reacción se agita durante aproximadamente 2 horas. Típicamente, se obtienen compuestos mono y diacilados. El producto monoacilado deseado se obtiene en una forma pura después de la purificación utilizando HPLC semi-preparativa.

Ejemplo 5.41 hidrocloreto de cis-etil-4-aminociclohexanocarboxilato



- 40 Se añadieron 19,3 ml de ácido clorhídrico concentrado (2,8 equivalentes) a una solución de ácido carboxílico de cis-4-aminociclohexano (10 g, 69,83 mmol) en alcohol etílico anhidro (250 ml). Se agitó la mezcla durante toda la noche a aproximadamente 60°C y después se enfrió hasta temperatura ambiente. Se evaporó al vacío el disolvente. Después se redisolvió el material crudo en acetonitrilo, se sonicó, y se concentró hasta un sólido al vacío. Este lavado de acetonitrilo se repitió tres veces para obtener 11,5 g de sólido blanco (96% de rendimiento). Puede prepararse hidrocloreto de 4-aminociclohexanocarboxilato de trans-etilo siguiendo el mismo procedimiento utilizando ácido carboxílico de trans-4-aminociclohexano.

Ejemplo 5.42 Hidrólisis de éster (condiciones básicas)

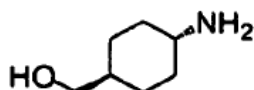
El éster apropiado se añade a una solución de 10 equivalentes de LiOH en 1:1 THF/H<sub>2</sub>O. Gradualmente, la mezcla de la reacción se calienta hasta aproximadamente 60°C y se agita durante toda la noche. Después de aproximadamente 12 horas, se verifica la presencia del compuesto deseado a través de LC/MS. La mezcla de la reacción se concentra y se añade HCl 1N en gotas. Las capas acuosas se extraen con 2-butanona (3 x 100 ml) y se secan con MgSO<sub>4</sub>. después del filtrado de MgSO<sub>4</sub>, el compuesto se concentra bajo presión reducida y se purifica utilizando cromatografía en columna o HPLC de fase inversa.

Ejemplo 5.43 Hidrólisis de éster (condiciones ácidas)

Se disuelve éster etílico de ácido carboxílico en ácido clorhídrico 2N. La solución resultante se calienta hasta aproximadamente 75°C y se agita durante aproximadamente tres horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añade hidróxido de amonio acuoso en exceso y el disolvente se evapora bajo presión reducida. La trituración del residuo con etanol, seguido por la filtración, da el ácido carboxílico correspondiente.

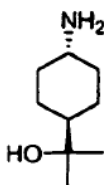
Ejemplo 5.44 Formación de Carboxamida

Se añade cloruro de oxalilo, bajo una atmósfera de N<sub>2(g)</sub>, en gotas a una solución del ácido carboxílico apropiado en DCM. Después se añade DMF a la solución y se observa burbujeo. Después de aproximadamente 6 horas, la mezcla de la reacción se concentra bajo presión reducida y se añaden DCM y NH<sub>4</sub>OH (cono). La mezcla de la reacción se agita durante aproximadamente 4 horas adicionales ante de ser concentrada y se purifica a través de HPLC preparativa de fase inversa (20-80% acetonitrilo/agua (0,1% TFA)).

Ejemplo 5.45 trans-(4-aminociclohexil)metan-1-ol

Se añadió hidrocloreuro de ácido carboxílico de trans-4-aminociclohexano (2,00g, 14,3 mmol) en porciones pequeñas a una solución agitada, caliente (70-85 °C) de Red-Al (27,0 g) durante 2 horas (un semisólido formado), y se continuó el calentamiento durante toda la noche. Después de 24 horas, la mezcla de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se trató con una solución de NaOH (3,8 g) en H<sub>2</sub>O (34 ml).

Después de la adición, la reacción se calentó gradualmente hasta 60°C, y se enfrió. La capa de tolueno se separó y la capa acuosa se extrajo con CHCl<sub>3</sub> (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se secaron con MgSO<sub>4</sub> y después se concentraron bajo presión reducida para proporcionar el compuesto deseado (1,81 g, 14,0 mmol) como un sólido blanco puro en 50% de rendimiento. ES-MS: 130 (M+ 1).

Ejemplo 5.46 trans-2-(4-aminociclohexil)propan-2-ol

4-[N,N-dibencilamino]ciclohexanocarboxilato de trans-fenilmetilo

A una mezcla calentada a 80°C de ácido trans-4-aminociclohexano carboxílico (8g, 55,97 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(23,48) en 112 ml de CH<sub>3</sub>CN, se añadió en gotas una solución de BnBr (23,3 ml, 195,5 mmol) en 70 ml de CH<sub>3</sub>CN mediante un embudo de adición. Se agitó la reacción durante toda la noche a 80°C. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El precipitado no se formó en el filtrado como lo hizo con el cis-somero por lo que el filtrado se concentró hasta un aceite y se llevó a la siguiente etapa (23,01 g, 99% de rendimiento).

trans-2-(4-[N,N-dibisbencilamino]ciclohexil)propan-2-ol

Se combinó 4-(bisbencilamino)ciclohexanocarboxilato de fenilmetilo (6 g, 14,50 mmol) con 460 ml de THF, se enjuagó con N<sub>2</sub> y se enfrió hasta 0°C. Se añadió bromuro de metilmagnesio (48 ml, 145,08 mmol) a la reacción y se dejó que se agite durante toda la noche. La reacción se desactivó con 600 ml de NH<sub>4</sub>Cl saturado. Las capas se separaron y los componentes orgánicos se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> aturado y salmuera (100 ml). Los componentes orgánicos se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. La mezcla se secó durante toda la noche en vacío elevado para producir 3,89g del producto sólido (80% de rendimiento).

trans-2-(4-aminociclohexil)propan 2-ol

3,85 g de trans-2-(4-[N,N-dibencilamino]ciclohexil)propan-2-ol (11,40 mmol) se combinaron con 3,3 g de 20 % en peso de hidróxido de paladio y se disolvió con 100 ml de alcohol etílico anhidro. La mezcla se enjuagó con H<sub>2</sub> (4X) ante que de un globo de H<sub>2</sub> se inerte en la reacción y se permitió que se agite durante toda la noche. Se hizo burbujear N<sub>2</sub> durante aproximadamente 20 minutos y el catalizador se filtró. La reacción se lavó con metanol. El filtrado se concentró al vacío y se redisolvió en acetonitrilo y se sonicó lo que produjo un sólido blanco. La mezcla se filtró y se obtuvo 0,67 g del producto blanco (37% de rendimiento),

#### Ejemplo 5.47 trans-4-(N,N-dibencilamino)ciclohexanol

A un frasco de base redonda de 1 litro equipado con agitación magnética, entrada de nitrógeno y embudo de goteo se cargó hidrocloreto de trans-4-aminociclohexanol (50,0 g, 0,33 mmol), carbonato de sodio (139,9 g, 1,32 mol) y DMF anhidro (400 ml). Se inició la agitación y se añadió bromuro de bencilo (82,3 ml, 0,69 mol) a través de un embudo de goteo durante un período de aproximadamente 15 minutos. Se observó una exoterma leve después de la adición de bromuro de bencilo. Se permitió que la reacción se agite a temperatura ambiente durante aproximadamente 18 horas, después se tomó una muestra para el análisis LCMS. LCMS indicó la conversión completa del material de partida en ese momento.

La mezcla de la reacción se filtró a través de un filtro frit medio al vacío para eliminar las sales, y el filtrado se diluyó con agua (400 ml) y MTBE (400 ml). La mezcla se agitó en un embudo de separación, después la capa acuosa inferior se drenó. La capa orgánica se decantó, después la capa acuosa se extrajo con MTBE (200 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se extrajeron dos veces con agua (300 ml), después se extrajeron con salmuera saturada (100 ml). La capa orgánica se secó (sulfato de sodio), se filtró y se evaporó bajo presión reducida para producir un sólido blanco. El sólido se secó en éter a 50°C al vacío. Al sólido seco se añadió ciclohexano (400 ml) y la mezcla se agitó en un baño de agua a 80°C hasta que la mayoría de los sólidos estuvieran en la solución. La solución se filtró rápidamente utilizando celite y un embudo de vidrio poroso al vacío. La suspensión resultante se calentó hasta ebullición para redissolver los sólidos y se agitó mientras se enfriaba lentamente. Los cristales blancos finos se filtraron en un filtro frit, después se lavaron con dos porciones de ciclohexano (50 ml). Los cristales después se secaron durante aproximadamente 18 horas a 60 °C al vacío para producir 58,4g (60%) de material puro. LRMS (ES) m/e 296,2 [MH]<sup>+</sup>; HPLC (5 → 70% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos) RT = 9,55 min.

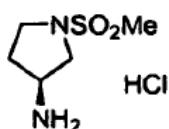
#### Ejemplo 5.48 trans-N,N-dibencil-4-(2-(piperidin-1-il)etoxi)ciclohexanamina

En un frasco de base redonda de 250 ml enjuagado con nitrógeno se cargó suspensión de hidruro de potasio al 35% en aceite (16,27 g, 142 mmol) y hexanos (60 ml). La mezcla se agitó brevemente, después se permitió que se asentara. El sobrenadante se extrajo a través de jeringa, después se añadieron trans-4-(dibencilamino)ciclohexanol (10,0 g, 33,9 mmol), hidrocloreto de 1-(2-cloroetil)piperidina (18,72 g, 101,7 mmol) y dioxano (120 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción tiende a espesarse. Una vez que la evolución de hidrógeno había terminado la mezcla se llevó a 90-100°C durante aproximadamente 2 horas, después se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió metanol (20 ml) y la mezcla se agitó hasta que la evolución de hidrógeno terminó. Los disolventes se evaporaron bajo presión reducida, y el residuo se dividió entre solución de carbonato de sodio al 5% (100 ml) y diclorometano (200 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (100 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y se secaron (sulfato de sodio), se filtraron y se evaporaron bajo presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía (gel de sílice, 330 g, utilizando un gradiente de cloroformo-etanol-solución de amoníaco concentrada de (98:2:0) a (92:8:2)) para dar 4,7 g de un aceite (61%). LRMS (ES) m/e 407,3 (MH)<sup>+</sup>; HPLC (5 → 70% acetonitrilo/agua (0,1% TFA) durante 20 minutos) RT = 9,23 min.

#### Ejemplo 5.49 trans-4-(2-(piperidin-1-il)etoxi)ciclohexanamina

Se cargaron trans-N,N-dibencil-4-(2-(piperidin-1-il)etoxi)ciclohexanamina (4,7 g, 11,6 mmol), 20% Pd(OH)<sub>2</sub>/C (0,94 g) y metanol (40 ml) en un frasco sellado con septum. La mezcla de la reacción se colocó bajo presión de globo de hidrógeno durante 18 horas a temperatura ambiente, en cuyo tiempo LCMS indicó la desbencilación completa para formar la amina libre. El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida para dar 2,42 g de un material cristalino (93%). En algunos casos se necesitó una porción adicional de catalizador (aproximadamente 50% de la carga inicial) a fin de lograr la reacción completa. LRMS (ES) m/e 227,2 [MH]<sup>+</sup>, 1H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 3,51(t, 2H), 3,12(m, 1H), 2,61(m, 1H), 2,42(t, 2H), 2,18(m, 4H), 1,93(m, 2H), 1,80(m, 2H), 1,50(m, 4H), 1,33(m, 2H), 1,12(m, 4H).

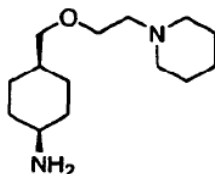
#### Ejemplo 5.50 hidrocloreto de 1-metilsulfonilpirrolidina-3S-amina



Se disolvieron (3S)-3-(terc-butylcarbonilamino)pirrolidina (10,0 mmol, 1 equivalentes) y N,N-diisopropiletilamina (25,0 mmol, 2,5 equivalentes) en 20 ml de DCM. Se añadió en gotas metanosulfonilcloruro (10,0 mmol, 1 equivalente) y la mezcla de la reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. Después de añadir agua se separaron

las fases y la fase orgánica se secó sobre  $MgSO_4$  y se evaporó para dar el producto deseado. Este compuesto se disolvió en 12 ml de dioxano y se añadieron 23 ml de HCl 4N en dioxano. La mezcla de la reacción se agitó durante toda la noche. La evaporación del disolvente y coevaporación adicional con tolueno dio el producto deseado. Esta reacción también puede realizarse con R-enantiómero.

5 Ejemplo 5.51 cis-4-((2-piperidiletoksi)metil)ciclohexilamina



Carboxilato de bencil cis-4-(N,N-dibencilamino)ciclohexano

10 Se disolvió ácido cis-4-aminociclohexanocarboxílico (10,0 g, 67,48 mmol) en 140 ml de acetonitrilo seco. Se añadió carbonato de potasio sólido (28,0g, 202,6 mmol). La suspensión se calentó hasta aproximadamente 80°C. A esta solución, se añadió bromuro de bencilo (28,09 ml, 236,2 mmol) en 70 ml de acetonitrilo, en gotas a través del embudo de adición. La mezcla de la reacción se agitó a aproximadamente 80°C bajo nitrógeno durante aproximadamente 2 horas después aproximadamente 40°C durante toda la noche. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y la suspensión se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El compuesto se purificó utilizando cromatografía en columna sobre gel de sílice (100% hexanos para eliminar el bromuro de bencilo en exceso, después acetato de etilo al 10% en hexanos). El producto se aisló como un sólido blanco (14,35 g, 51% de rendimiento) : ES-MS (m/z) 414.

cis-(4-[N,N-dibencilamino]ciclohexil)metan-1-ol

20 Una solución de carboxilato de bencil cis-4-(N,N-dibencilamino)ciclohexano (14,35g, 34,70 mmol) en THF seco (180 ml) se preparó y después se enfrió hasta -78°C. Se añadió en gotas una solución de hidruro de aluminio y litio (104.0 ml, solución 1,0 M en éter dietílico). Al final de la adición, la temperatura de reacción se elevó hasta aproximadamente -50°C (acetonitrilo/hielo seco) y la temperatura se mantuvo durante aproximadamente 3 horas. La finalización de la reacción se monitoreó por LC-MS. La reacción se desactivó mediante la adición en gotas de sulfato de sodio acuoso saturado. Después se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) y éter dietílico (50 ml). Se formó un sólido blanco y se eliminó por filtración y se lavó con THF. La fase orgánica se separó y se concentró bajo presión reducida. El producto se purificó mediante lenta precipitación. El residuo se disolvió en 5 ml de éter dietílico y la solución se dispuso en capas con 50 ml de hexanos. Se obtuvieron cristales grandes claros después de la difusión durante toda la noche. (7,279g, 67% de rendimiento) ES-MS (m/z) 310.

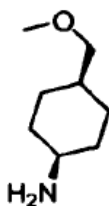
cis-N,N-dibencil-N-(4-[(2-piperidiletoksi)metil]ciclohexil)amina

30 Se suspendieron cis-(4-[N,N-dibencilamino]ciclohexil)metan-1-ol (2,851g, 9,21 mmol) e hidrocloreto de (2-cloroetil)piperidina en 50 ml de dioxano. Se añadió en gotas hidruro de potasio (3,16g, 35% en peso en aceite mineral) en la suspensión en 20 ml de dioxano. La mezcla de la reacción se calentó hasta aproximadamente 70°C y se añadió en gotas un equivalente de hidruro de potasio (1,05g, 35% en peso en aceite mineral). La temperatura se mantuvo durante aproximadamente 2 horas, después de lo que se completó la conversión. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se desactivó con metanol. Los disolventes se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió acetonitrilo (200 ml) y el sólido marrón gris se eliminó por filtración, El crudo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando 3% (etanol/hidróxido de amonio = 8: 1) en diclorometano. El producto se aisló como un aceite naranja que se solidificó al vacío. (2,84g, 72% de rendimiento) : ES-MS (m/z) 421.

cis-4-1(2-piperidiletoksi)metil)ciclohexilamina

40 Se disolvió cis-N,N-dibencil-N-(4-[(2-piperidiletoksi)metil]ciclohexil)amina (2,84g, 6,65 mmol) en 20 ml de etanol. Se añadió hidróxido de paladio (20% en peso) (50 mg) y la reacción se agitó durante toda la noche bajo una atmósfera de hidrógeno, El catalizador se eliminó por filtración y se lavó con porciones pequeñas de etanol. El filtrado se concentró y se utilizó sin purificación adicional. (rendimiento cuantitativo): ES-MS (m/z) 241,

Ejemplo 5.52 cis -4-(metoximetil)ciclohexilamina



Ácido cis-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]ciclohexano carboxílico.

Se disolvió ácido cis-4-aminociclohexil carboxílico (2,0g, 13,96 mmol) en 40 ml de 1,4-dioxano. Se añadieron dos equivalentes de di-terc-butil-dicarbonato (6,094g, 27,92 mmol) seguido por 3 equivalentes de bicarbonato de sodio (4,06g, 41,88 mmol) disuelto en 40 ml de agua. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 12 horas. La finalización de la reacción se monitoreó por LC-MS. Se añadió en gotas KHSO<sub>4</sub> acuoso saturado, hasta que la evolución de gas se interrumpió. El disolvente después se eliminó bajo presión reducida y el producto crudo se extrajo en acetato de etilo. Los componentes orgánicos combinados se lavaron con KHSO<sub>4</sub> acuoso saturado y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, produciendo 2,6 g de producto. En base a <sup>1</sup>H RMN, el producto era puro y se utilizó en etapas posteriores sin purificación adicional ES-MS (m/z) 244.

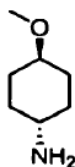
cis-(terc-butoxi)-N-[4hidroxietil]ciclohexil]carboxamida

Se disolvió ácido cis-4-[(terc-butoxi)carbonilamino]ciclohexano carboxílico (2,6g, 10,68 mmol) en THF (20 ml) y se enfrió hasta -10°C (MeOH-hielo). Se añadió N-metil morfolina seguido por clorofornato de isobutilo (1,175ml, 10,68 mmol). Después de 10 minutos, se añadió NaBH<sub>4</sub> como un sólido en una porción (1,213g, 32,06 mmol). La mezcla de la reacción se calentó hasta 0°C y se añadió en gotas metanol (13,35 ml). Después de aproximadamente 30 minutos, la reacción se desactivó con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 5%. La reacción monitoreada por LC-MS se completó. El producto crudo se extrajo con acetato de etilo y los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se obtuvo un aceite incoloro y se solidificó lentamente a temperatura ambiente. El producto y pureza se evaluaron por LC-MS y <sup>1</sup>H RMN. No fue necesaria ninguna purificación adicional. (rendimiento cuantitativo) ES-MS (m/z) 230.

cis-4-(metoximetil)ciclohexil amina

Se lavó hidruro de sodio (72 mg, 1,78 mmol, 60% en peso suspendido en aceite mineral) tres veces con porciones de 10 ml de hexanos, y se suspendió en THF seco (12 ml). La suspensión se enfrió hasta 0°C. A esta suspensión, se añadieron cis-(terc-butoxi)-N-[4-(hidroximetil]ciclohexil]carboxamida (0,273g, 1,20 mmol) y 15-corona-5 (0,250 ml, 1,25 mmol). La mezcla de la reacción después se agitó a 0°C durante aproximadamente 30 minutos. Después se añadió yoduro de metilo en gotas (75 µl, 1,20 mmol). Debido a que la reacción no estaba completa después de agitar durante toda la noche a temperatura ambiente, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se hizo reaccionar con 100 mg de hidruro de sodio y 0,250 ml de 15-corona-5. Después de aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente, la reacción se completó. La reacción se desactivó mediante la adición lenta de agua y el producto crudo se extrajo con acetato de etilo. La purificación se realizó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando acetato de etilo al 20% en hexanos como eluente. ES-MS (m/z) 244. cis-(terc-butoxi)-N-[4-(metoximetil]ciclohexil]carboxamida se disolvió en etanol (5 ml) y la solución se trató con 1 ml de cloruro de acetilo a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el sólido resultante se utilizó sin purificación adicional. (79% de rendimiento) ES-MS (m/z) 144.

Ejemplo 5.53 trans-4-metoxiciclohexilamina



Trans-(terc-butoxi)-N-[4-metoxiciclohexil]carboxamida

Se suspendió hidruro de sodio (60% en aceite mineral, 278 mg, 6,96 mmol) en THF (5 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadieron trans-terc-butoxi-N-(4-hidroxiciclohexil) carboxamida (1 g, 4,64 mmol) y 15-corona-5 (0,965 ml, 4,88 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante aproximadamente 30 minutos. Se añadió yodometano (0,289 ml, 4,64 mmol) y la reacción se agitó a 0°C durante aproximadamente 1 hora después de lo que LCMS mostró que estaba completada. La reacción se desactivó con metanol, los disolventes se eliminaron al vacío y el crudo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 8:2 n-hexanos/ acetato de etilo) para producir 642 mg del éter metílico. ES-MS: 230 (M+1).



trans-4-metiloxiciclohexilamina

Se disolvió trans-(terc-butoxi)-N-(4-metoxiciclohexil)carboxamida (642 mg, 2,80 mmol) en etanol (5 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió cloruro de acetilo (1,5 ml) y se permitió que la reacción alcance temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Se retiró el disolvente al vacío para dar el producto deseado (458 mg, rendimiento cuantitativo) como una sal de hidrocloreuro, ES-MS: 130 (M+1).

Los Compuestos de Aminopurina pueden ensayarse para su actividad de acuerdo a los siguientes procedimientos.

Ensayo JNK1

A 10 µl de un Compuesto de Aminopurina en DMSO al 20%/tampón de dilución al 80% que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 2,5 mM, Triton al 0,004% x100, 2 µg/ml de leupeptina, β-glicerolfosfato 20 mM, vanadato de sodio 0,1 mM, y DTT 2 mM en agua se añade 30 µl de 50 ng His6-JNK1 en el mismo tampón de dilución. La mezcla se preincuba durante 30 minutos a temperatura ambiente. Sesenta microlitros de 10 µg GST-c-Jun(1-79) en tampón de ensayo que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), cloruro de sodio 50 mM, EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 24 mM, DTT 1 mM, PNPP 25 mM, triton al 0,05% x100, 11 µM ATP, y se añade 0,5 µCi γ-<sup>32</sup>P ATP en agua y se permite que la reacción proceda durante 1 hora a temperatura ambiente. La fosforilación c-Jun se termina mediante la adición de 150 µl de ácido tricloroacético al 12,5%. Después de 30 minutos, el precipitado se cosecha en una placa de filtro, se diluye con 50 µl del fluido de centelleo y se cuantifica mediante un contador. Los valores IC<sub>50</sub> se calculan como la concentración de los Compuestos de Aminopurina en los que la fosforilación de c-Jun se reduce hasta 50% del valor de control. Ciertos compuestos tienen un valor IC<sub>50</sub> que varía de 0,01 - 10 µM en este ensayo.

Ensayo JNK2

A 10 µl de un Compuesto de Aminopurina en DMSO al 20%/tampón de dilución al 80% que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 2,5 mM, Triton al 0,004% x100, 2 µg/ml de leupeptina, β-glicerolfosfato 20 mM, vanadato de sodio 0,1 mM, y DTT 2 mM en agua se añade 30 µl de 50 ng His6-JNK2 en el mismo tampón de dilución. La mezcla se preincuba durante 30 minutos a temperatura ambiente. Sesenta microlitros de 10 µg GST-c-Jun(1-79) en tampón de ensayo que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), cloruro de sodio 50 mM, EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 24 mM, DTT 1 mM, PNPP 25 mM, triton al 0,05% x100, 11 µM ATP, y se añade 0,5 µCi γ-<sup>32</sup>P ATP en agua y se permite que la reacción proceda durante 1 hora a temperatura ambiente. La fosforilación de c-Jun se termina mediante la adición de 150 µl de ácido tricloroacético al 12,5%. Después de 30 minutos, el precipitado se cosecha en una placa de filtro, se diluye con 50 µl del fluido de centelleo y se cuantifica mediante un contador. Los valores IC<sub>50</sub> se calculan como la concentración de los Compuestos de Aminopurina en los que la fosforilación de c-Jun se reduce hasta 50% del valor de control. Ciertos compuestos tienen un valor IC<sub>50</sub> que varía de 0,01 - 10 µM en este ensayo.

Ensayo JNK3

A 10 µl de un Compuesto de Aminopurina en DMSO al 20%/tampón de dilución al 80% que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 2,5 mM, Triton al 0,004% x100, 2 µg/ml de leupeptina, β-glicerolfosfato 20 mM, vanadato de sodio 0,1 mM, y DTT 2 mM en agua se añade 30 µl de 50 ng His6-JNK3 en el mismo tampón de dilución. La mezcla se preincuba durante 30 minutos a temperatura ambiente. Sesenta microlitros de 10 µg GST-c-Jun(1-79) en tampón de ensayo que consistía en HEPES 20 mM (pH 7,6), cloruro de sodio 50 mM, EDTA 0,1 mM, cloruro de magnesio 24 mM, DTT 1 mM, PNPP 25 mM, triton al 0,05% x100, 11 µM ATP, y se añade 0,5 µCi γ-<sup>32</sup>P ATP en agua y se permite que la reacción proceda durante 1 hora a temperatura ambiente. La fosforilación de c-Jun se termina mediante la adición de 150 µl de ácido tricloroacético al 12,5%. Después de 30 minutos, el precipitado se cosecha en una placa de filtro, se diluye con 50 µl del fluido de centelleo y se cuantifica mediante un contador. Los valores IC<sub>50</sub> se calculan como la concentración de los Compuestos de Aminopurina en los que la fosforilación de c-Jun se reduce hasta 50% del valor de control. Ciertos compuestos tienen un valor IC<sub>50</sub> que varía de 0,01 - 10 µM en este ensayo.

Ensayo p38α

El ensayo de cinasa p38 α se lleva a cabo en formato de placa de 96 pocillos en un volumen final de 100µl. Se utiliza ATP en una concentración final de 340 µM, tres veces el Km aparente. La cinasa se diluye en tampón de dilución (HEPES 20 mM pH 7,6, EDTA 0,1 mM, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, Triton al 0,004% (p/v) x100, 2 µg/ml de leupeptina, β-glicerolfosfato 20 mM, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 0,1 mM, y ditioneitol 2 mM) y se premezcla con MBP diluido en tampón de solución de sustrato (HEPES 20 mM pH 7,6, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, Triton al 0,05%(p/v) X100) para dar concentraciones de ensayo finales de 50 ng/pocillo (7,8 nM) para p38α y 30 µg/pocillo (16µM, 2X Km) para MBP. La mezcla p38α/MBP (85 µl) se añade a un Compuesto de Aminopurina (5 µl) diluido en DMSO al 100% para dar una concentración de ensayo final de DMSO de 5%(v/v). Se permite que la enzima, sustrato y Compuesto de Aminopurina se equilibren a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos. La reacción se comienza mediante la adición de 10 µl 10X ATP en tampón de cinasa (MgCl<sub>2</sub> 130 mM, ditioneitol 6 mM, para-nitrofenil fosfato 150 mM, 100 µCi/ml γ-<sup>33</sup>P]-ATP). Se permite que las reacciones procedan durante 60 minutos antes de la precipitación de la proteína a través de ácido tricloroacético (7,2% TCA final). Después de una incubación de 30

minutos con TCA, los productos de la reacción se recolectan en placa de 96 pocillos de microfiltro de vidrio (Millipore MAHF CIH60) utilizando un Packard Filtermate. El precipitado se lava con solución salina tamponada con fosfato y la cantidad de fosfato incorporado en MBP se cuantifica por recuento de centelleo utilizando un Packard Topcount-NXT.

#### 5 Ensayo de producción de IL-2 de células T Jurkat

Se compraron células T Jurkat (clon E6-1) de American Tissue Culture Collection y se mantuvieron en medio de crecimiento que consistía en medio RPMI 1640 que contenía L-glutamina 2 mM (Mediatech), con suero fetal bovino al 10% (Hyclone) y penicilina/estreptomicina. Todas las células se cultivaron a 37°C en 95% de aire y 5% de CO<sub>2</sub>. la célula se colocaron en placas en una densidad de 0,2 x 10<sup>6</sup> célula por pocillo en 200 µl de medio. El stock de Compuesto de Aminopurina (20 mM) se diluye en medio de crecimiento y se añade a cada pocillo como una solución concentrada 10x en un volumen de 25 µl, se mezcla, y se permite que se preincube con células durante 30 minutos. El vehículo del compuesto (dimetilsulfóxido) se mantiene en una concentración final de 0,5% en todas las muestras. Después de 30 minutos las células se activan con PMA (forbol miristato acetato; concentración final 50 µg/ml) y PHA (fitohemaglutinina; concentración final 2 µg/ml). PMA y PHA se añaden como una solución concentrada 10x hecha en el medio de crecimiento y se añaden en un volumen de 25 µl por pocillo. Las placas de células se cultivan durante 10 horas. Las células se peletean por centrifugación y el medio se elimina y se almacena a -20°C. las alícuotas del medio se analizan por ELISA sándwich en cuanto a la presencia de IL-2 de acuerdo a las instrucciones de los fabricantes (Endogen). Los valores IC<sub>50</sub> se calculan como la concentración de los Compuestos de Aminopurina en los que la producción de IL-2 se redujo hasta 50% del valor de control. Ciertos compuestos tienen un valor IC<sub>50</sub> que varía de 0,01 - 10 µM en este ensayo.

#### Ensayo de producción de TNF-α inducida por LPS en vivo en ratas

Se permitió que las ratas CD macho procuradas de Charles River Laboratories de 7 semana de edad se aclimaten durante una semana previo al uso. Se cánula una vena de cola lateral por vía percutánea con un catéter fuera de la aguja de medida 22 bajo anestesia breve de isoflurano. A las ratas se les administra un Compuesto de Aminopurina por inyección intravenosa a través del catéter de la vena de la cola o por cebo oral 15 a 180 minutos previo a la inyección de 0,05 mg/kg de LPS (E. Coli 055:13S). los catéteres se enjuagan con 2,5 ml/kg de solución salina inyectable normal. Se extrajo sangre a través de punción cardíaca 90 minutos después de la provocación de LPS. Se prepara plasma utilizando tubos de separación de litio heparina y se congelan a -80°C hasta que se analizan. Los niveles de TNF-α se determinan utilizando un kit ELISA DE TNF-α específico para ratas (liosource). Los valores ED<sub>50</sub> se calculan como la dosis del Compuesto de Aminopurina en la que la producción de TNF-α se reduce hasta 50% del valor de control. Ciertos compuestos tienen un valor ED<sub>50</sub> que varía de 1-30 mg/kg en este ensayo.

#### Ensayo de tirosina cinasa LANCE HTRF Abl

El día previo a realizar el ensayo, se prepara lo siguiente:

- (1) 2 mg/ml de BSA/Triton al 0,4% X100/ HEPES 50 mM pH 7,6 (mantenido a 4°C);
- 35 (2) Estreptavidina-APC (PerkinElmer Life Sciences CR130-100) diluida en nH<sub>2</sub>O de acuerdo a instrucciones (mantenida a 4°C, hasta 2 semanas como máximo);
- (3) Sustrato 2 de péptido biotinilado con Tirosina Cinasa (Pierce 29914) diluido en nH<sub>2</sub>O (mantenido a 4°C);
- (4) Diluciones del Compuesto de Aminopurina en DMSO.
- 40 Las siguientes mezclas se preparan el día en el que se realiza el ensayo:
- (5) DTT 2 mM / HEPES 50 mM pH 7,6;
- (6) estaurosporina 2 mM para Control de fondo y diluciones en serie 1:3 para el control de referencia en DMSO;
- 45 (7) mezcla LANCE en 2 mg/ml de BSA/Triton al 0,2% X100/ HEPES 50 mM pH 7,6 preparada de la siguiente manera: estreptavidina-APC 250 nM (PerkinElmer Life Sciences CR130-100), Sustrato 2 de péptido biotinilado con Tirosina Cinasa 250 nM; (Pierce 29914), y Eu-antifosfoTirosina 250 ng/ml (PerkinElmer Life Sciences AD0066);
- (8) mezcla de detección/cinasa preparada de la siguiente manera: 18,7 ng/ml Abl (Calbiochem 102555), MgCl<sub>2</sub> 5,9 mM, y mezcla LANCE al 58,8% de (7), llevada a volumen final con DTT 2 mM / HEPES 50 mM pH 7,6;
- 50 (9) ATP 240 µM en DTT 2 mM / HEPES 25 mM pH 7,4.

A una placa de microtitulación de 384 pocillos negra (Corning 3710) se añade 2,5 µl/pocillo de diluciones del

compuesto/DMSO y 42,5 µl/pocillo de mezcla de detección/cinasa. La placa se incuba durante 5 minutos en un agitador seguido por 10 minutos de incubación estática a temperatura ambiente.

Se añade 5 µl/pocillo de ATP a la placa y la placa se incuba durante 5 minutos en agitador seguido por 55 minutos de incubación estática a temperatura ambiente.

- 5 Se añade 30 µl/pocillo de EDTA 16,7 mM a la placa y la placa se incuba durante al menos 2 minutos en un agitador seguido por 30 minutos de incubación estática a temperatura ambiente. La placa después se lee (TR•FRET) en instrumento Packard Fusion.

Ciertos compuestos tienen un valor  $IC_{50}$  que varía de 0,01 - 10 µM en este ensayo.

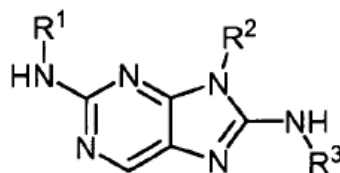
#### Ensayo Alamar Blue para Células K562

- 10 K562 de leucemia mielógena crónica se mantienen en RPMI 1640 con FBS inactivado con calor al 10% y Penicilina-estreptomycinina al 1%. Para el ensayo de proliferación celular, las células K562 se colocan en placas de base redonda de 96 pocillos. Las células se tratan con un Compuesto de Aminopurina el mismo día de la colocación en placa. Para los experimento de respuesta a dosis, una solución 30 mM de un Compuesto de Aminopurina se diluye para dar una concentración final de 30 µM, 3 µM, 0,3 µM, 0,03 µM, y 0,003 µM. La concentración final de
- 15 DMSO es 0,2% en cada pocillo. Alamar Blue se utiliza para cuantificar el número de células después de una incubación de 72 horas con un Compuesto de Aminopurina. Ciertos compuestos tienen un valor  $IC_{50}$  que varía de 0,1 – 10 µM en este ensayo.

- 20 Las realizaciones en la presente memoria se divulgan para que no sean limitadas en el alcance por las realizaciones específicas divulgadas en los ejemplos que están dirigidos a ser ilustraciones de unos pocos aspectos de las realizaciones divulgadas y cualquier realización que sea funcionalmente equivalente está contemplada por la presente divulgación. En efecto, diversas modificaciones de las realizaciones divulgadas en la presente memoria además de aquella que se muestran y describen en la presente memoria serán evidentes para aquellos con experiencia en la técnica y tienen como objeto estar dentro del alcance de las reivindicaciones anexadas.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula (I)



(I)

o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo,

- 5 en la que:

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido;

R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido; y

- 10 R<sup>3</sup> es arilo sustituido con uno o más halógenos o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más halógenos, en el que el grupo arilo o heteroarilo C<sub>3-10</sub> además está opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo;

- 15 para su uso en un procedimiento para tratar o prevenir la resistencia a la insulina, diabetes de Tipo I de aparición lenta, diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, diabetes de aparición en la edad madura, diabetes juvenil, diabetes dependiente de la insulina, diabetes no dependiente de la insulina, diabetes relacionada con la desnutrición, diabetes propensa a la cetosis, pre-diabetes, diabetes relacionada con fibrosis cística, diabetes resistente a la cetosis, fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis hepática, esteatofibrosis o esteatohepatitis,

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> es cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido.

- 20 3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R<sup>1</sup> es cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo.

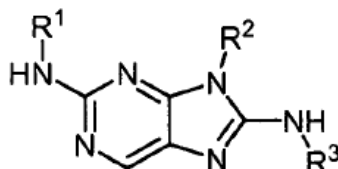
4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>2</sup> es heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido.

- 25 5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que R<sup>2</sup> es 3-oxetanilo sustituido o no sustituido, 3-tetra hidrofuranilo, 4-tetrahidropiranilo, 4-piperidinilo, 4-(1-acil)-piperidinilo, 4-(1-alcanosulfonil)piperidinilo, 3-pirrolidinilo, 3-(1-acil)pirrolidinilo, y 3-(1-alcanosulfonil)pirrolidinilo.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en la que R<sup>3</sup> es arilo sustituido con halógeno.

7. El compuesto de la reivindicación 6 en el que R<sup>3</sup> es arilo sustituido con flúor.

8. Uso de un compuesto que tiene la fórmula (I):



(I)

- 30

o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, en la que:

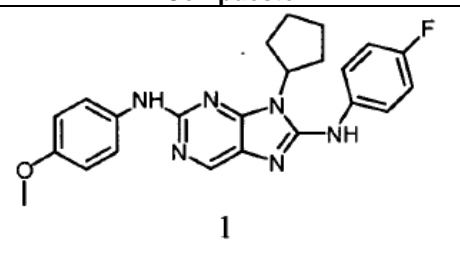
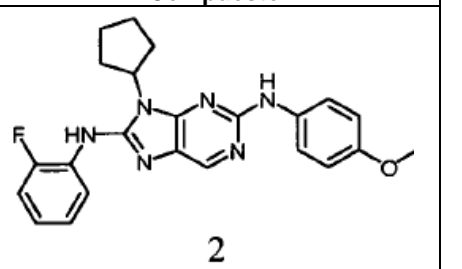
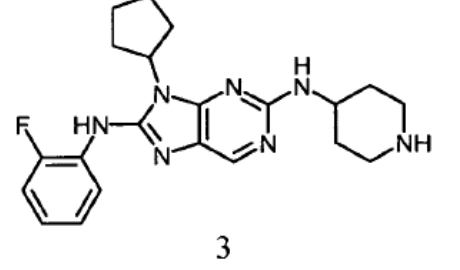
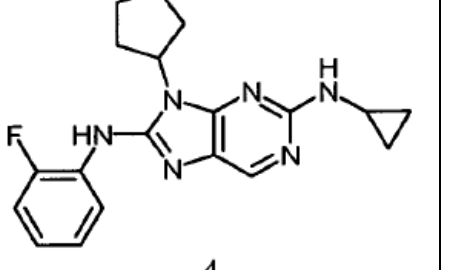
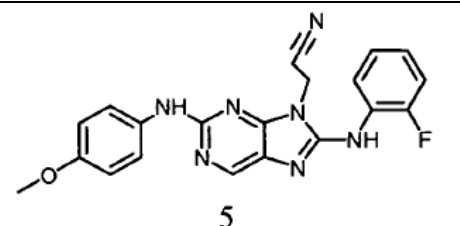
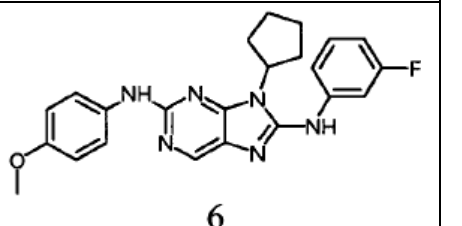
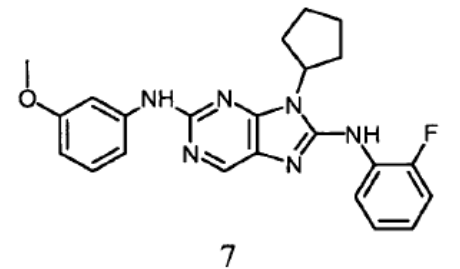
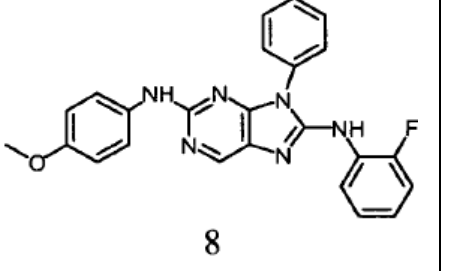
R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido;

R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido, heterociclo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido o no sustituido; y

- 5 R<sup>3</sup> es arilo sustituido con uno o más halógenos o heteroarilo C<sub>3-10</sub> sustituido con uno o más halógenos, en el que el grupo arilo o heteroarilo C<sub>3-10</sub> además está opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, amino, alquilamino, carboxi, aminocarbonilo, ciano, acilamino, alcanosulfonilamino, tetrazolilo, triazolilo o imidazolilo;

10 Para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de resistencia a la insulina, diabetes Tipo I de aparición lenta, diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, diabetes de aparición en la edad madura, diabetes juvenil, diabetes dependiente de la insulina, diabetes no dependiente de la insulina, diabetes relacionada con la desnutrición, diabetes propensa a la cetosis, pre-diabetes, diabetes relacionada con fibrosis cística, diabetes resistente a la cetosis, fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis hepática, esteatofibrosis o esteatohepatitis.

- 15 9. El compuesto de la reivindicación o el uso de la reivindicación 8, en la que el compuesto se selecciona de la siguiente tabla

Compuesto	Compuesto
 <p>1</p>	 <p>2</p>
 <p>3</p>	 <p>4</p>
 <p>5</p>	 <p>6</p>
 <p>7</p>	 <p>8</p>

