

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 496**

51 Int. Cl.:

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2009 E 09717066 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 2262802**

54 Título: **Inhibidores de la PIM quinasa y los métodos para su uso**

30 Prioridad:

03.03.2008 US 33359 P

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

19.02.2014

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BURGER, MATTHEW;
LAN, JIONG;
LINDVALL, MIKA;
NISHIGUCHI, GISELE y
TETALMAN, MICHELLE**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 443 496 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

Inhibidores de la PIM quinasa y los métodos para su uso.

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos, sus tautómeros, estereoisómeros y polimorfos, y las sales de estos farmacéuticamente aceptables, las composiciones de los nuevos compuestos junto con los portadores farmacéuticamente aceptables, y los usos de los nuevos compuestos, ya sea solos o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, en la profilaxis o tratamiento del cáncer.

ANTECEDENTES

10 La infección con el retrovirus Maloney y la integración del genoma en el genoma de célula huésped da lugar al desarrollo de linfomas en ratones. La integración del provirus de Maloney quinasa (PIM- quinasa) se identificó como uno de los protooncogenes frecuentes capaces de ser activados transcripcionalmente mediante este evento de integración del retrovirus (Cuyper HT et al., "Murine leukemia virus- induced T- cell lymphomagenesis: integration of proviruses in a distinct chromosomal region, " Cell 37 (1) : 141- 50 (1984) ; Selten G, et al., "Proviral activation of the putative oncogene Pim- 1 in MuLV induced T- cell lymphomas" EMBO J 4 (7) : 1793- 8 (1985)), estableciendo así una correlación entre la sobre-expresión de esta quinasa y su potencial oncogénico. El análisis de homología de secuencia demostró que existen 3 Pim-Quinasas altamente homólogas (Pim1, 2 & 3), siendo Pim1 el proto- oncogén identificado originalmente por integración retroviral. Adicionalmente, la sobreexpresión de Pim1 o Pim2 en ratones transgénicos muestra una mayor incidencia de linfomas de células T (Breuer M et al., "Very high frequency of lymphoma induction by a chemical carcinogen in pim- 1 transgenic mice" Nature 340 (6228) : 61- 3 (1989)), mientras que la sobre-expresión en conjunto con c- myc se asocia con la incidencia de linfomas de células B (Verbeek S et al., "Mice bearing the E mu- myc and E mu- pim- 1 transgenes develop pre- B- cell leukemia prenatally" Mol Cell Biol 11 (2):1176- 9 (1991)). De esta manera, estos modelos de animales establecen una fuerte correlación entre la sobreexpresión de Pim y la oncogenesis en malignidades hematopoyéticas. Además de estos modelos de animales, la sobreexpresión de Pim se ha reportado en muchas otras malignidades humanas. La sobreexpresión de Pim1, 2 & 3 se observa frecuentemente en muchas malignidades hematopoyéticas (Amson R et al., "The human protooncogene product p33pim is expressed during fetal hematopoiesis and in diverse leukemias, " PNAS USA 86 (22) : 8857- 61 (1989); Cohen AM et al., "Increased expression of the hPim- 2 gene in human chronic lymphocytic leukemia and non- Hodgkin lymphoma, " Leuk Lymph 45 (5) : 951- 5 (2004), Huttmann A et al., "Gene expression signatures separate B- cell chronic lymphocytic leukaemia prognostic subgroups defined by ZAP- 70 and CD38 expression status, " Leukemia 20: 1774- 1782 (2006)) y en cáncer de próstata (Dhanasekaran SM, et al., "Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer", Nature 412 (6849) : 822- 6 (2001) ; Cibull TL, et al., "Overexpression of Pim- 1 during progression of prostatic adenocarcinoma", J Clin Pathol 59 (3) : 285- 8 (2006)), mientras que la sobre-expresión de Pim3 se observa frecuentemente en el carcinoma hepatocelular (Fujii C, et al., "Aberrant expression of serine/ threonine kinase Pim- 3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines", Int J Cancer 114: 209- 218 (2005)) y cáncer de páncreas (Li YY et al., "Pim- 3, a proto- oncogene with serine/ threonine kinase activity, is aberrantly expressed in human pancreatic cancer and phosphorylates bad to block bad- mediated apoptosis in human pancreatic cancer cell lines", Cancer Res 66 (13) : 6741- 7 (2006)).

40 Pim1, 2 & 3 son Serina/Treonina quinasas que funcionan normalmente en la supervivencia y proliferación de células hematopoyéticas en respuesta a factores de crecimiento y citoquinas. La señalización de las citoquinas a través de la vía Jak/Stat conduce a la activación de la transcripción de los genes de Pim y las síntesis de las proteínas. No se requieren otras modificaciones post-traduccionales para la actividad Pim quinasa. De esta manera, la señalización secuencial abajo en primer lugar se controla en el nivel de giro de proteína y traduccional/transcripcional. Los sustratos de Pim quinasas incluyen los reguladores de la apoptosis tales como el miembro de la familia BAD de Bcl- 2 (Aho T et al., "Pim- 1 kinase promotes inactivation of the pro- apoptotic Bad protein by phosphorylating it on the Ser112 gatekeeper site, : FEBS Letters 571: 43- 49 (2004)), reguladores del ciclo celular tales como p21^{WFA1/CIP1} (Wang Z, et al., "Phosphorylation of the cell cycle inhibitor p21Cip1/WAF1 by Pim- 1 kinase, " Biochim Biophys Acta 1593: 45- 55 (2002)), CDC25A (1999), C- TAK (Bachmann M et al., "The Oncogenic Serine/ Threonine Kinase Pim- 1 Phosphorylates and Inhibits the Activity of Cdc25C- associated Kinase 1 (C- TAK1). Un papel novedoso de Pim- 1 en el punto de control del ciclo celular G2/M, " J Biol Chem 179: 48319- 48328 (2004)) y NuMA (Bhattacharya N, et al., "Pim- 1 associates with protein complexes necessary for mitosis", Chromosoma 111 (2) : 80- 95 (2002)) and the protein synthesis regulator 4EBP1 (Hammerman PS et al, "Pim and Akt oncogenes are independent regulators of hematopoietic cell growth and survival", Blood 105 (11) : 4477- 83 (2005)). Los efectos de Pim(s) en estos reguladores son consistentes con un papel en la protección de apoptosis y promoción de crecimiento y proliferación celular. De esta manera, se cree que la sobreexpresión de Pim(s) en el cáncer juega un papel en la promoción de la supervivencia y proliferación de las células cancerosas y, por lo tanto, sus inhibiciones deben ser una manera efectiva de tratar cánceres en los cuales ellos se sobreexpresan. De hecho varios reportes indican que el derribo de la expresión de Pim(s) con ARNip da lugar a la inhibición de la proliferación y muerte celular (Dai JM, et al., "Antisense oligodeoxynucleotides targeting the serine/ threonine kinase Pim- 2 inhibited proliferation of DU- 145

cells”, Acta Pharmacol Sin 26 (3) : 364- 8 (2005) ; Fujii et al 2005; Li et al 2006). Adicionalmente, se cree que la activación mutacional de varios oncogenes bien conocidos en malignidades hematopoyéticas, ejerce sus efectos al menos en parte a través de Pim(s). Por ejemplo, reduciendo la expresión dirigida de la expresión de pim se deteriora la supervivencia de células hematopoyéticas transformadas por Flt3 y BCR/ABL (Adam et al 2006). De esta manera, los inhibidores para Pim1, 2 &3 deben ser útiles en el tratamiento de estas malignidades. Además de un potencial papel en el tratamiento del cáncer y las enfermedades mieloproliferativas, tal inhibidor podría ser útil para controlar la expansión de células inmunes en otra condición patológica tales como enfermedades autoinmunes, reacciones alérgicas y en síndromes de rechazo de trasplante de órganos. Este concepto se soporta por los hallazgos que la diferenciación de linfocitos T auxiliares Th1 por IL-12 y IFN- α da lugar a la inducción de la expresión de ambos Pim1&2 (Aho T et al, “Expression of human Pim family genes is selectively up- regulated by cytokines promoting T helper type 1, but not T helper type 2, cell differentiation, “Immunology 116: 82- 88 (2005)). Además, la expresión de Pim(s) se inhibe en ambos tipos de células por el inmunosupresor TGF- β (Aho et al 2005). Estos resultados sugieren que Pim quinastas se involucran en el proceso de diferenciación temprana de los linfocitos T auxiliares, que coordinan las respuestas inmunológicas en enfermedades autoinmunes, reacción alérgica y rechazo de trasplante de tejido.

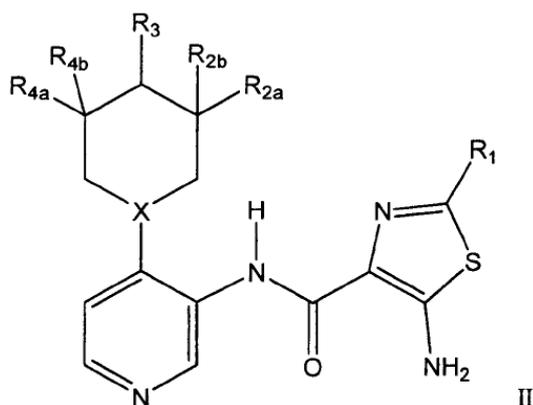
Existe una necesidad continua de los compuestos que inhiban la proliferación de capilares, inhiban el crecimiento de tumores, traten el cáncer, modulen la detención del ciclo celular, y/o inhiban las moléculas tales como Pim1, Pim2, y Pim3 y de formulaciones farmacéuticas y medicamentos que contienen tales compuestos. También existe una necesidad de métodos de administración de tales compuestos, formulaciones farmacéuticas, y medicamentos a pacientes o sujetos necesitados de dicho tratamiento.

WO2008/054701 revela las 2- aminotiazol- 4-carboxílico amidas y su uso como inhibidores de la proteína quinasa.

WO2008/054702 revela los derivados anilinpiperazina y su uso para tratar por ejemplo un trastorno relacionado con la actividad de una proteína quinasa. WO2008/054749 revela las 2- aminotiazol- 4- carboxílico amidas y su uso como inhibidores de la proteína quinasa.

25 RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención provee un compuesto de Fórmula II, o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable,



en donde:

30 R₁ se selecciona de- NH- CO- alquilo, cicloalquilo no sustituido o sustituido, arilo no sustituido o sustituido, y heteroarilo sustituido o no sustituido;

X representa CH o N;

R_{2a} se selecciona de -H, -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo, amino y benzoato;

R_{2b} se selecciona de -H y alquilo;

35 R₃ se selecciona de H, OH, alquilo, alcoxi y halo;

R_{4a} se selecciona de -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo y amino; y

R_{4b} se selecciona de H, alquilo y halo;

dónde cicloalquilo, cuando se menciona, se refiere a un sustituyente alquilo heterocíclico o carbocíclico mono- o policíclico;

5 arilo se refiere a un anillo arilo carbocíclico monocíclico o policíclico con 3 a 14 átomos de carbono en el esqueleto; y

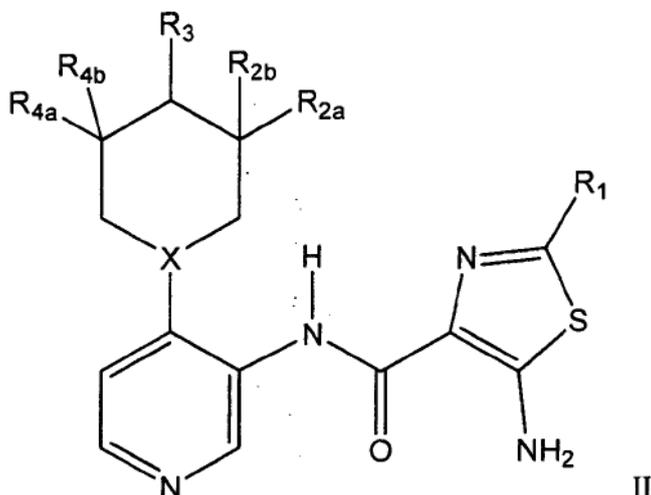
sustituido se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un grupo de sustitución seleccionado de hidroxilo, nitro, amino, imino, ciano, halo, tio, sulfonilo, tioamido, amidino, imidino, oxo, oxamidino, metoxamidino, imidino, guanidino, sulfonamido, carboxilo, formilo, alquilo inferior, halo-alquilo inferior, alquilo inferior-amino, halo-alquilo inferior-amino, alcoxi inferior, halo-alcoxi inferior, alcoxi inferior-alquilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, heteroaralquilcarbonilo, alquitio, aminoalquilo, cianoalquilo y arilo, en donde dicho grupo de sustitución por sí mismo puede ser sustituido por un carboxilo, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi inferior, aminocarbonilo, -SR, tioamido, -SO₃H, -SO₂R o cicloalquilo, dónde R es hidrógeno, hidroxilo o alquilo inferior.

15 Otro aspecto de la presente invención provee una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de Fórmula II, o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable, junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto de la presente invención, se provee un método para inhibir la actividad de PIM quinasa en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula II. Incluso otro aspecto de la presente invención provee un método para tratar una condición, mediante la modulación de la actividad de la Integración del Provirus Maloney quinasa (PIM quinasa), que comprende la administración a un paciente necesitado de dicho tratamiento de una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula II.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En un aspecto, la presente invención provee un compuesto de Fórmula II, o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable,



25 en donde:

R₁ se selecciona de -NH-, -CO-, alquilo, cicloalquilo no sustituido o sustituido, arilo no sustituido o sustituido, y heteroarilo sustituido o no sustituido;

X representa CH o N;

30 R_{2a} se selecciona de -H, -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo, amino y benzoato;

R_{2b} se selecciona de -H y alquilo;

R₃ se selecciona de H, OH, alquilo, alcoxi y halo;

R_{4a} se selecciona de -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo y amino; y

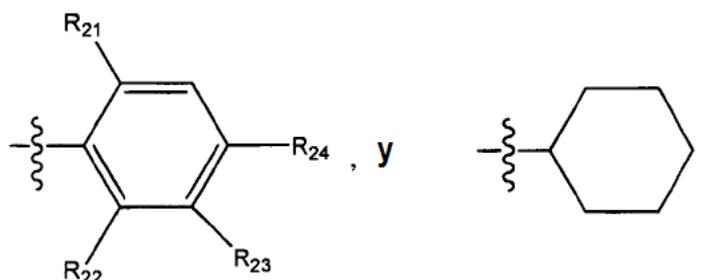
R_{4b} se selecciona de H, alquilo y halo;

5 dónde cicloalquilo, cuando se menciona, se refiere a un sustituyente alquilo heterocíclico o carbocíclico mono- o policíclico;

arilo se refiere a un anillo arilo carbocíclico monocíclico o policíclico con 3 a 14 átomos de carbono en el esqueleto; y

10 sustituido se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un grupo de sustitución seleccionado de hidroxilo, nitro, amino, imino, ciano, halo, tio, sulfonilo, tioamido, amidino, imidino, oxo, oxamidino, metoxamidino, imidino, guanidino, sulfonamido, carboxilo, formilo, alquilo inferior, halo-alquilo inferior, alquilo inferior-amino, halo-alquilo inferior-amino, alcoxi inferior, halo-alcoxi inferior, alcoxi inferior-alquilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, heteroaralquilcarbonilo, alquitio, aminoalquilo, cianoalquilo y arilo, en donde dicho grupo de sustitución por sí mismo puede ser sustituido por un carboxilo, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi inferior, aminocarbonilo, -SR, tioamido, -SO₃H, -SO₂R o cicloalquilo, dónde R es hidrógeno, hidroxilo o alquilo inferior.

15 En algunos aspectos, la invención provee los compuestos de Fórmula II, en donde R₁ se selecciona de fenilo sustituido o no sustituido, ciclohexilo sustituido o no sustituido, y piperidinilo sustituido o no sustituido. En otros aspectos, la invención provee los compuestos de Fórmula II, en donde R₁ se selecciona de



en donde:

20 R₂₁ es H o halo;

R₂₂ es H o halo;

R₂₃ se selecciona de H, halo, alquilo y alcoxi; y

R₂₄ es H u OH.

25 En algunas modalidades de la invención, R₂₁ y R₂₂ independientemente se seleccionan de H o F. En otras modalidades, R₂₃ se selecciona de H, Cl, F, -OC₂H₅, -OCH₃, y- OCH (CH₃)₂.

En otras modalidades, la invención provee los compuestos de formula II, en donde R₂ se selecciona de H, metilo, etilo, metoxi, etoxi, fluorometilo, trifluorometilo, aminometilo y hidroximetilo.

Incluso otras modalidades proveen los compuestos de formula II, en donde R³ se selecciona de H, -OH, metilo, metoxi, F y Cl.

30 En algunas modalidades, la invención provee los compuestos de formula II, en donde R_{4a} se selecciona de -OH, metilo, etilo, trifluorometilo, metoxi, etoxi, amino, F y Cl. Otras modalidades proveen los compuestos de formula II, en donde R_{4b} se selecciona de metilo y F.

35 Otro aspecto de la presente invención provee una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de Fórmula II, o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable, junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto de la presente invención se provee un método para inhibir la actividad de PIM quinasa en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula II. Incluso otro aspecto de la presente invención provee un método para tratar una condición, mediante la modulación de la actividad de la Integración del Provirus Maloney quinasa (PIM quinasa), que comprende la administración a un paciente necesitado de dicho tratamiento de una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula II.

Una modalidad preferida de este aspecto de la presente invención provee un método para tratar un trastorno de cáncer en un paciente, que comprende la administración al paciente de una composición que comprende una cantidad de un compuesto de la Reivindicación 1 o Reivindicación 10, efectiva para inhibir la actividad de PIM quinasa en el paciente

Otro aspecto de la presente invención provee un compuesto de cualquier Fórmula II, para utilizar como un agente terapéutico. Incluso otro aspecto de la presente invención provee el uso de cualquiera de los compuestos de Fórmula II, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

Definiciones

“Inhibidor de PIM” se utiliza en este documento para referirse a un compuesto que muestra una IC_{50} en relación con la actividad PIM quinasa de no más de aproximadamente 100 μ M y más generalmente no más de aproximadamente 50 μ M, según se mide en los ensayos de depleción de PIM descritos a continuación en este documento.

La frase “alquilo” se refiere a grupos alquilo que no contienen heteroátomos. De esta manera, la frase incluye los grupos alquilo de cadena lineal tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo y similares.

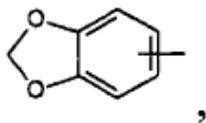
Como se utiliza en este documento, el término “halógeno” o “halo” se refiere a grupos cloro, bromo, flúor y yodo. “Haloalquilo” se refiere a un radical alquilo sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término “halo-alquilo inferior” se refiere a un radical alquilo inferior sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término “haloalcoxi” se refiere a un radical alcoxi sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término “halo-alcoxi inferior” se refiere a un radical alcoxi inferior sustituido con uno o más átomos de halógeno.

“Amino” se refiere en este documento al grupo $-NH_2$, que puede ser sustituido para formar $-NRR'$. El término “alquilamino” se refiere en este documento al grupo NRR' donde R y R' son cada uno independientemente seleccionado de hidrógeno o un alquilo inferior. El término “arilamino” se refiere en este documento al grupo $-NRR'$ donde R es arilo y R' es hidrógeno, un alquilo inferior, o un arilo. El término “aralquilamino” se refiere en este documento al grupo $-NRR'$ donde R es un aralquilo inferior y R' es hidrógeno, un alquilo inferior, un arilo, o un aralquilo inferior.

El término “alcoxi” se refiere a RO- en donde R es alquilo sustituido o no sustituido. Ejemplos representativos de grupos alcoxi inferior incluyen metoxi, etoxi, t-butoxi, trifluorometoxi y similares.

“Cicloalquilo” se refiere a un sustituyente alquilo heterocíclico o carbocíclico mono- o policíclico. Los sustituyentes cicloalquilo típicos tienen de 3 a 8 átomos en el esqueleto (i.e., anillo) en el cual cada átomo en el esqueleto es cualquiera un carbono o un heteroátomo. El término “heterocicloalquilo” o “heterocicilil” se refiere en este documento a sustituyentes cicloalquilo que tienen de 1 a 5, y más generalmente de 1 a 4 heteroátomos en la estructura del anillo. Los heteroátomos apropiados empleados en los compuestos de la presente invención son nitrógeno, oxígeno, y azufre. Las fracciones de heterocicloalquilo representativas incluyen, por ejemplo, morfolino, piperazinil, piperidinil y similares. Los grupos carbocicloalquilo son grupos cicloalquilo en los cuales todos los átomos en el anillo son carbono. Cuando se utiliza en conexión con los sustituyentes cicloalquilo, el término “policíclico” se refiere en este documento a estructuras cíclicas alquilo fusionadas y no-fusionadas.

“Arilo” se refiere a grupos aromáticos carbocíclicos monocíclicos y policíclicos opcionalmente sustituidos que tienen de 3 a 14 átomos de carbono en el esqueleto. El término “heteroarilo” se refiere en este documento a grupos que tienen de 1 a 4 heteroátomos como átomos en el anillo en un anillo aromático con los residuos de los átomos en el anillo siendo átomos de carbono. Cuando se utiliza en conexión con los sustituyentes arilo, el término “arilo policíclico” se refiere en este documento a estructuras cíclicas fusionadas o no-fusionadas en las cuales al menos una estructura cíclica es aromática, tal como, por ejemplo, benzodioxozolo (que tiene una estructura heterocíclica fusionada a un grupo fenilo, i.e.,



naftilo, y similares. Las fracciones ejemplares empleadas como sustituyentes en compuestos de la presente invención incluyen fenilo, piridilo, pirimidinilo, tiazolilo, indolilo, imidazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, triazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, purinilo, naftilo, benzotiazolilo, benzopiridilo, y benzimidazolilo, y similares.

- 5 “Opcionalmente sustituido” o “sustituido” se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un grupo de sustitución seleccionado de hidroxilo, nitro, amino, imino, ciano, halo, tio, sulfonilo, tioamido, amidino, imidino, oxo, oxamidino, metoxamidino, imidino, guanidino, sulfonamido, carboxilo, formilo, alquilo inferior, halo-alquilo inferior, alquilo inferior-amino, halo-alquilo inferior-amino, alcoxi inferior, halo-alcoxi inferior, alcoxi inferior-alquilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, heteroaralquilcarbonilo, alquitio, aminoalquilo, cianoalquilo y arilo, en donde dicho grupo de sustitución por sí mismo puede ser sustituido por carboxilo, halo; nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi inferior, aminocarbonilo, -SR, tioamido, -SO₃H, -SO₂R o cicloalquilo, donde R es hidrógeno, hidroxilo o alquilo inferior.

15 Se entiende que las definiciones anteriores no tienen la intención de incluir patrones de sustitución no permisibles (por ejemplo, metilo sustituido con cinco grupos de flúor o un átomo de halógeno sustituido con otro átomo de halógeno). Tales patrones de sustitución no-permisibles son bien conocidos por el experto.

20 También será evidente para los expertos en la técnica que los compuestos de la invención, incluyendo los compuestos de compuestos de fórmula (II) o sus estereoisómeros, así como las sales, ésteres, metabolitos y profármacos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de ellos, pueden ser sometidos a tautomerización y por lo tanto pueden existir en diversas formas tautoméricas en donde un protón de un átomo de una molécula se desplaza a otro átomo y en consecuencia, se reorganizan los enlaces químicos entre los átomos de las moléculas. Ver, por ejemplo, March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, pages 69-74 (1992). Como se utiliza en este documento, el término “tautómero” se refiere a los compuestos producidos por el desplazamiento de protones, y se debe entender que todas las formas tautoméricas, en la medida que puedan existir, se incluyen dentro de la invención.

25 Los compuestos de la invención, incluyendo los compuestos de fórmula (II) o sus tautómeros, así como las sales, ésteres, metabolitos y profármacos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de ellos, pueden contener átomos de carbono sustituidos asimétricamente. Tales átomos de carbono sustituidos asimétricamente pueden resultar en los compuestos de la invención que existen en enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que pueden ser definidas, en términos de estereoquímica absoluta, tal como en formas (R)- o (S)-. Como resultado, todos los posibles isómeros, estereoisómeros individuales en sus formas ópticamente puras, mezclas de los mismos, mezclas racémicas (o “racematos”), mezclas de diastereómeros, así como diastereómeros individuales de los compuestos de la invención se incluyen en la presente invención. Los términos configuración “S” y “R”, como se utiliza en este documento, son como se definen por el IUPAC 1974 RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY, *Pure Appl. Chem.* 45:13-30 (1976). Los términos α y β se emplean para posiciones en el anillo de compuestos cíclicos. El lado α del plano de referencia es el lado en el cual el sustituyente preferido se encuentra en la posición de número inferior. Estos sustituyentes que se encuentran en el lado opuesto del plano de referencia se asignan descriptores β . Cabe señalar que este uso difiere de los de las estereomatrizes cíclicas, en las que “ α ” significa “debajo del plano” e indica una configuración absoluta. Los términos configuración α y β , como se utilizan en este documento, son como se definen por la CHEMICAL ABSTRACTS INDEX GUIDE-APPENDIX IV (1987) párrafo 203.

45 Como se utiliza en este documento, el término “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a las sales de metal alcalino térreo o ácido no-tóxicas de los compuestos de Fórmula (II). Estas sales se pueden preparar *in situ* durante la purificación o el aislamiento final de los compuestos de Fórmula (II), o haciendo reaccionar por separado las funciones ácido o base con un apropiado ácido o base orgánica o inorgánica, respectivamente. Las sales representativas incluyen pero no se limitan a las siguientes: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato. También, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden ser cuaternizados con tales agentes como haluros de alquilo inferiores, tales como cloruro de metilo, etilo, propilo, y butilo, bromuros, y yoduros; dialquilo sulfatos como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, bromuros y yoduros, haluros de aralquilo como

bromuros de bencilo y fenetilo, y otros. De este modo se obtienen productos dispersables o solubles en aceite o agua.

Ejemplos de ácidos que pueden ser empleados para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen tales ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y tales ácidos orgánicos como ácido oxálico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido succínico y ácido cítrico. Las sales de adición básicas se pueden preparar *in situ* durante la purificación o el aislamiento final de los compuestos de fórmula (II), o por separado mediante la reacción de las fracciones del ácido carboxílico con una base apropiada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico o con amoníaco, o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, aluminio y similares, así como amonio no tóxico, amonio cuaternario, y cationes de amina, incluyendo, pero no limitando a amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen la dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares.

Como se utiliza en este documento, el término “éster farmacéuticamente aceptable” se refiere a ésteres, que se hidrolizan *in vivo* e incluyen aquellos que se descomponen fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto original o una sal del mismo. Los grupos éster apropiados incluyen, por ejemplo, aquellos derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanico, alquenoico, cicloalcanico y alcanodioico, en el cual cada fracción alquilo o alquenilo tiene ventajosamente más de 6 átomos de carbono. Ejemplos de ésteres particulares incluyen formatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

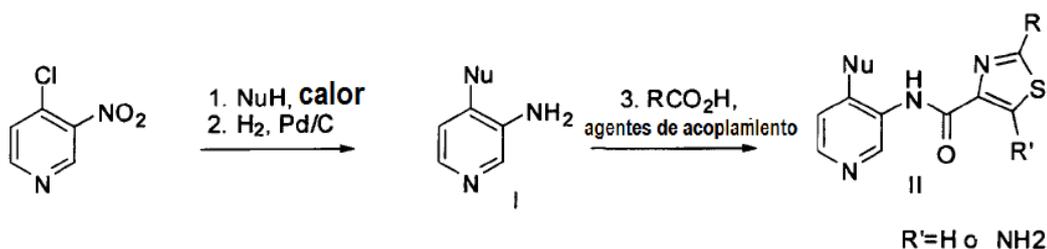
El término “profármacos farmacéuticamente aceptables” como se utiliza en este documento se refiere a los profármacos de los compuestos de la presente invención que están, dentro del alcance del juicio médico razonable, apropiados para utilizar en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similares, acorde con una relación riesgo/beneficio razonable, y efectivos para su uso pretendido, así como las formas zwitterionicas, cuando sea posible, de los compuestos de la invención. El término “profármaco” se refiere a compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* para producir el compuesto original de la fórmula anterior, por ejemplo por hidrólisis en la sangre. Una discusión detallada se provee en T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, y en Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Será evidente para los expertos en la técnica que los compuestos de la invención, incluyendo los compuestos de fórmula (II) o sus tautómeros, profármacos y estereoisómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables, ésteres y profármacos de cualquiera de ellos, se pueden procesar *in vivo* a través del metabolismo en un humano o cuerpo de animal o célula para producir los metabolitos. El término “metabolito” como se utiliza en este documento se refiere a la fórmula de cualquier derivado producido en un sujeto después de la administración de un compuesto original. Los derivados pueden ser producidos a partir del compuesto original mediante diversas transformaciones bioquímicas en el sujeto tal como, por ejemplo, oxidación, reducción, hidrólisis, o conjugación e incluyen, por ejemplo, óxidos y derivados desmetilados. Los metabolitos de un compuesto de la invención se pueden identificar utilizando técnicas de rutina conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Bertolini, G. et al., J. Med. Chem. 40: 2011- 2016 (1997) ; Shan, D. et al., J Pharm. Sci. 86 (7) : 765- 767; Bagshawe K., Drug Dev. Res. 34: 220- 230 (1995) ; Bodor, N., Advances in Drug Res. 13: 224- 331 (1984) ; Bundgaard, H., Design of Prodrugs (Elsevier Press 1985) ; y Larsen, I. K., Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development (Krogsgaard- Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991). Se debe entender que compuestos químicos individuales que son estereoisómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables, de cualquiera de ellos, se incluyen dentro de la invención.

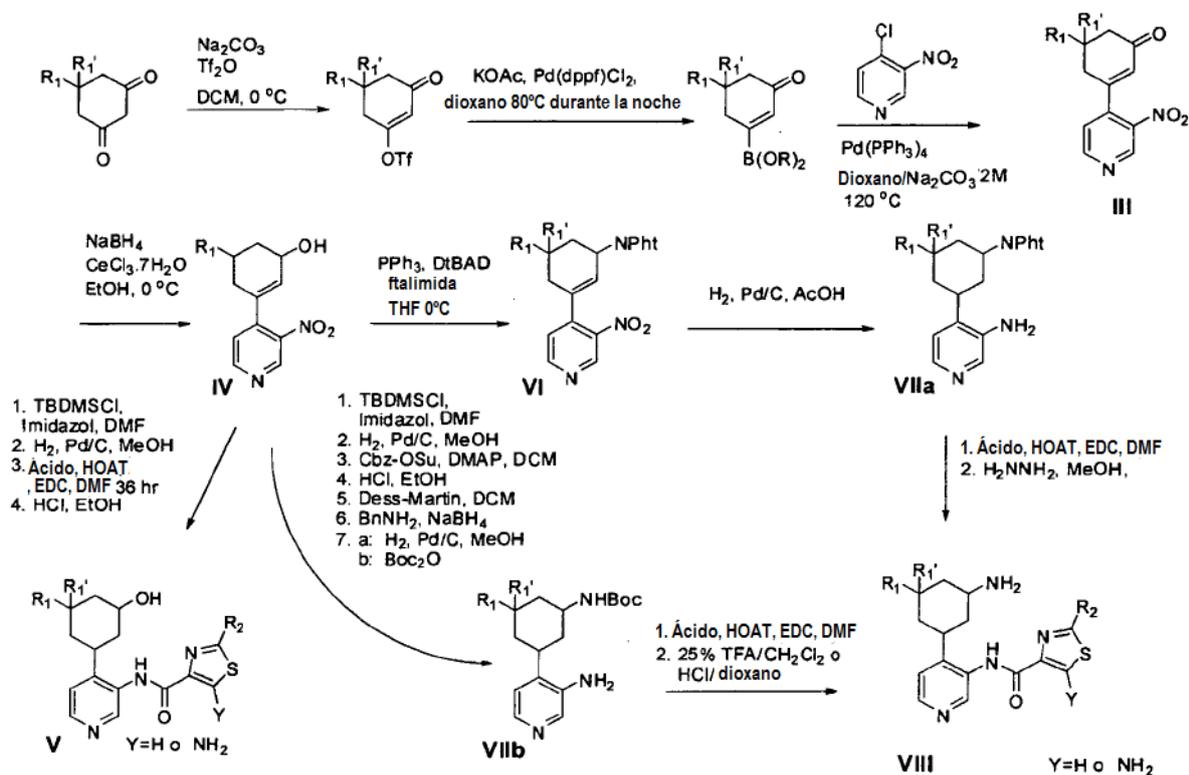
El término “cáncer” se refiere a enfermedades cancerosas que pueden ser tratadas ventajosamente por la inhibición de Pim quinasa, incluyendo, por ejemplo, cánceres sólidos, tales como carcinomas (por ejemplo, de los pulmones, páncreas, tiroides, ovarios, vejiga, mama, próstata, o colon), los melanomas, trastornos mieloides (por ejemplo, leucemia mieloides, mieloma múltiple y eritroleucemia), los adenomas (por ejemplo, adenoma vellosos del colon) y sarcomas (por ejemplo, osteosarcoma).

50 Métodos Sintéticos

Se revela que ciertos compuestos, incluyendo los compuestos de la invención, se pueden obtener a través de procedimientos conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, como se muestra en el Esquema 1, la 4-cloro, 3-nitro piridina se puede hacer reaccionar con un nucleófilo produciendo después la reducción nitro de una 4-sustituida 3-amino piridina I. Las piridinas I amino sustituidas se pueden acetilar con ácidos tiazolcarboxílicos con la ayuda de agentes de acoplamiento, o con haluros ácidos o anhídridos ácidos produciendo las piridinas II 3, 4 disustituidas. Si el grupo R de la posición 2 del tiazol es bromo, triflato o yodo, se puede realizar una modificación adicional para incorporar una variedad de sustituyentes en esta posición, mediante las reacciones de formación de enlace carbono-carbono mediado por el metal.

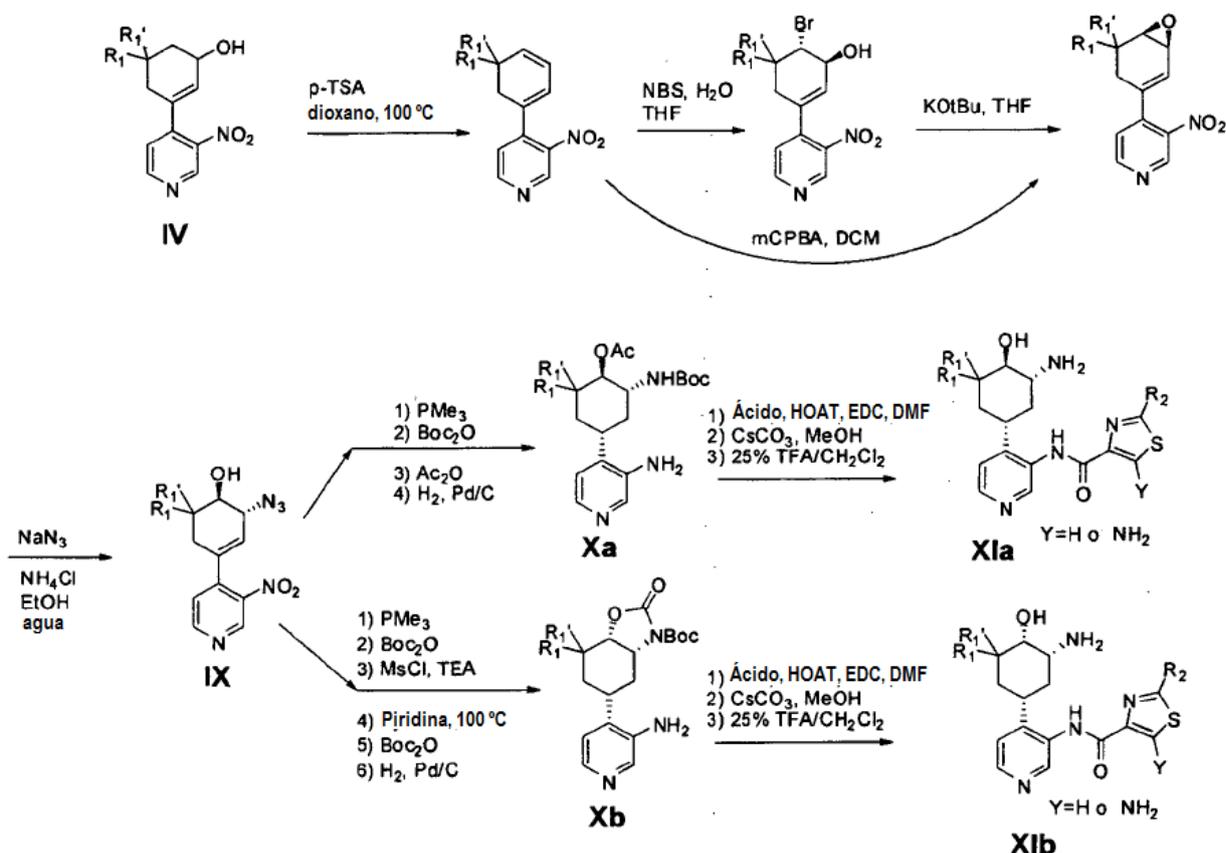
Esquema 1.

La reacción de la 4- cloro- 3- nitropiridina con nucleófilos como se representa en el Esquema 1, no se limita a nucleófilos a base de nitrógeno; se pueden formar enlaces carbono-carbono también con la adición neta de nucleófilos de carbono. Como se muestra en el Esquema 2, las ciclohexanodionas se pueden convertir vía monotriflatos con los ciclohexanonaboronatos ésteres correspondientes que pueden someterse a la formación del enlace carbono-carbono mediada por paladio con 4- cloro, 3- nitro piridina para producir las ciclohexenonas nitropiridina sustituidas III. La reducción de la funcionalidad de la enona puede producir un ciclohexenol IV, el cual bajo protección con el alcohol, la reducción nitro y alqueno, el acoplamiento de amida y la desprotección puede producir las ciclohexanol amidas V. El ciclohexenol IV también puede someterse a la reacción de Mitsunobo con ftalimida para producir un aminociclohexeno protegido VI. Después de la reducción nitro y alqueno, la aminociclohexil piridilo anilina VIIa ftalimida protegida puede someterse al acoplamiento de amida y la desprotección, para producir las aminociclohexano amidas VIII. La correspondiente aminociclohexano piridilo anilina VIIb Boc protegida también se puede preparar a partir de ciclohexenol IV de la siguiente manera: protección de alcohol, alqueno y la reducción nitro, la protección piridilo amina Cbz, la desprotección silil éter, la oxidación de Dess-Martin a la ciclohexanona, la aminación reductora con bencilamina, la desprotección Cbz y bencilo y la protección amina alifática primaria Boc. En los productos amida V y VIII, si R₂ es halo o triflato, las amidas IV y VIII además se pueden modificar por modificaciones estándar para introducir arilos, alquilos y heteroarilos sustituidos a R₂. Por ejemplo, si R₂ es Br, mediante la reacción con ácidos borónicos o reactivos organometálicos, o la conversión al boronato éster correspondiente y la reacción con haluros o triflatos de arilo/heteroarilo, son posibles una variedad de modificaciones R₂.

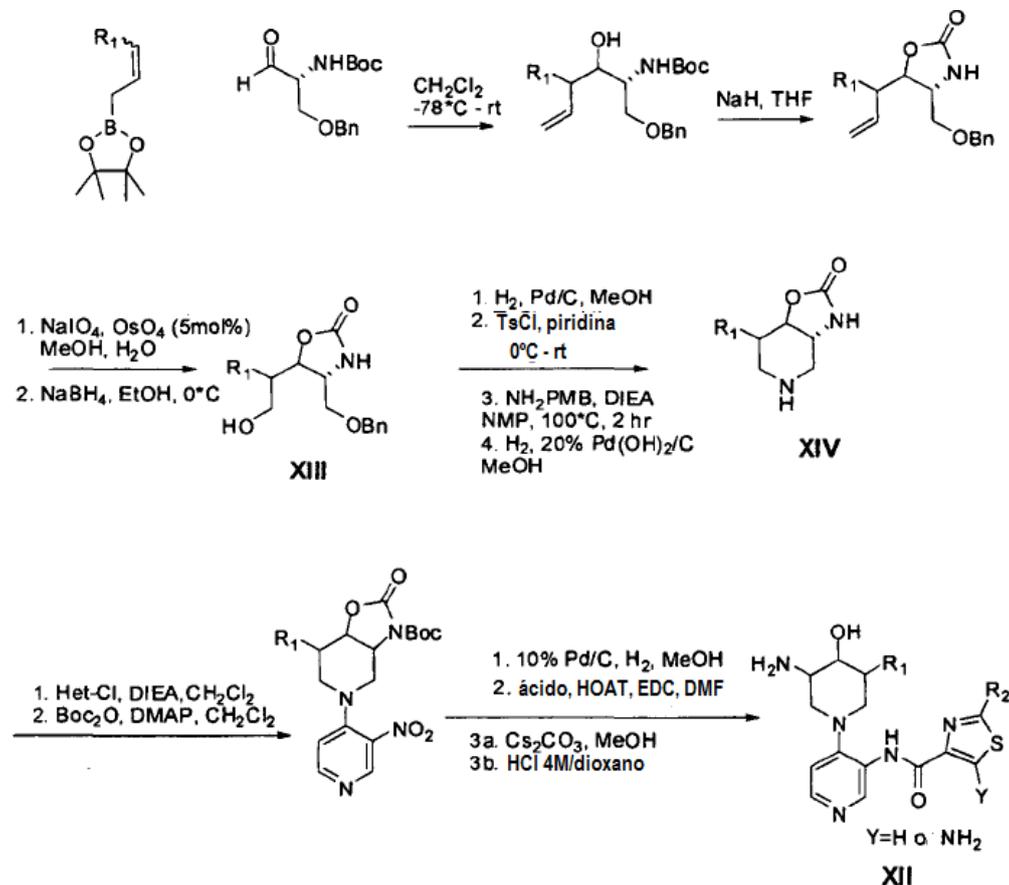
Esquema 2.

Se pueden obtener las tiazol amidas con grupos ciclohexilo sustituidos por medio de la modificación de nitropiridil ciclohexenol IV. Como se muestra en el Esquema 3, se puede deshidratar el ciclohexenol IV, produciendo un ciclohexadieno que con epoxidación (vía formación de la bromohidrina y la eliminación de HBr o a partir de mCPBA directamente) y la apertura del epóxido con azida produce el ciclohexenil azido alcohol IX. El ciclohexenil azido alcohol IX se puede convertir a la hidroxi anilina trans amino protegida Xa, mediante la reducción azida, la protección de alcohol y alqueno y la reducción nitro. Como alternativa, el ciclohexenil azido alcohol IX se puede convertir a la hidroxi anilina amino *cis* protegida Xb, mediante la reducción azida y la protección Boc, la mesilación de alcohol y la ciclación intramolecular al *cis* carbamato cíclico, seguido por la protección Boc y la reducción alqueno y nitro. Las anilinas ciclohexilpiridil resultantes Xa y Xb se pueden convertir a las correspondientes tiazol amidas XIa y XIb mediante el acoplamiento de amida, acetato o escisión de carbamato cíclico y la desprotección Boc. Si R₂ es halo o triflato, las amidas XIa y XIb y XII además se pueden modificar, mediante las modificaciones estándar para introducir arilos, alquilos y heteroarilos sustituidos en R₂, después de la formación del enlace amida y antes de la desprotección completa. Por ejemplo, si R₂ es Br, mediante la reacción con ácidos borónicos o reactivos organometálicos, o la conversión a los correspondientes boronato ésteres y la reacción con haluros o triflatos de arilo/heteroarilo, son posibles una variedad de modificaciones de R₂.

Esquema 3.



Las 3-aminopiperidinas sustituidas se pueden preparar y modificar para producir las 3-aminopiperidinil tiazol amidas sustituidas XII como se representa en el Esquema 4. La reacción de ésteres de boronato de crotilo con SerOBn aldehído seguido por la formación de carbamato cíclico, la escisión oxidativa de alqueno y la reducción produce el compuesto hidroxilo XIII. La desprotección del bencilo seguido por bis-tosilación y la reacción con *p*-metoxibencilamina, y la desprotección de la amina producen la piperidina XIV. Mediante el uso de ésteres de boronato quirales, y los diferentes aldehídos derivados de L y D serina, se pueden obtener todos los diastereómeros posibles de 5- alquilo, 4- hidroxilo, 3- aminopiperidina trisustituida resultante. La reacción de piperidina XIV sustituida con 4- cloro- 3- nitropiridina, seguido por la protección del carbamato, la reducción nitro, el acoplamiento de amida, apertura del carbamato cíclico y la desprotección produce las 5- metilo, 4- hidroxilo, 3- aminopiperidinil tiazol amidas XII trisustituidas. Si R₂ es halo o triflato, la amida XII además se puede modificar, por modificaciones estándar para introducir arilos, alquilos y heteroarilos sustituidos a R₂ después de la formación del enlace amida y antes de la desprotección completa. Por ejemplo, si R₂ es Br, mediante la reacción con ácidos borónicos o reactivos organometálicos, o la conversión a los correspondientes éster boronato y la reacción con haluros o triflatos de arilo/heteroarilo, son posibles una variedad de modificaciones de R₂.

Esquema 4.

Los compuestos de la invención son útiles *in vitro* o *in vivo* en la inhibición del crecimiento de células cancerosas. Los compuestos pueden ser utilizados solos o en composiciones junto con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados incluyen, por ejemplo, agentes de procesamiento y potenciadores y modificadores de entrega del fármaco, tales como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, sodio carboximetil celulosa, dextrosa, hidroxipropil- β -ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de punto de fusión bajo, resinas de intercambio iónico, y similares, así como combinaciones de cualquiera de dos o más de los mismos. Otros excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., New Jersey (1991).

Las cantidades efectivas de los compuestos de la invención generalmente incluyen cualquier cantidad suficiente para inhibir de forma detectable la actividad de Pim, mediante cualquiera de los ensayos descritos en este documento, mediante otros ensayos de actividad de Pim quinasa conocidos por aquellos que son expertos en la técnica o mediante la detección de una inhibición o alivio de los síntomas del cáncer.

La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación unitaria variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la ruta de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, y la severidad de la enfermedad particular sometida a terapia. La cantidad terapéuticamente efectiva para una situación dada se puede determinar fácilmente por experimentación rutinaria y está dentro de la habilidad y juicio del médico general.

Para los propósitos de la presente invención, una dosis terapéuticamente efectiva generalmente será una dosis total diaria administrada a un huésped en dosis únicas o divididas, puede estar en cantidades, por ejemplo, a partir de 0.001 a 1000 mg/kg de peso corporal al día y más preferido de 1.0 a 30 mg/kg de peso corporal al día. Las composiciones unitarias de dosificación pueden contener tales cantidades de submúltiplos de las mismas para constituir la dosis diaria.

5 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, sublingual, por aplicación con aerosol o aerosol para inhalación, por vía rectal, o tópica en formulaciones unitarias de dosificación que contienen portadores, adyuvantes, y vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales no tóxicos según se desee. La administración tópica también puede involucrar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. El término parenteral como se utiliza en este documento incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intraesternal, o técnicas de infusión.

10 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones oleaginosas o acuosas inyectables estériles se pueden formular de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes de humectación o dispersión apropiados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una suspensión o solución inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico aceptable parenteralmente, por ejemplo, como una solución en 1,3-propanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están el agua, solución de Ringer, y solución de cloruro de sodio isotónico. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos o estériles como un medio de suspensión o solvente. Para este fin cualquier aceite fijo blando se puede emplear incluyendo mono- o di-glicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

15 Los supositorios para administración rectal del fármaco se pueden preparar mediante la mezcla del fármaco con un excipiente no irritante apropiado tal como mantequilla de cacao y polietilenglicoles, que son sólidos a temperaturas corrientes pero líquidos a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirán en el recto y el fármaco se liberará.

20 Las formas de dosificación sólidas para la administración oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales diferentes de diluentes inertes, por ejemplo, agentes de lubricación tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos, y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes reguladores. Los comprimidos y píldoras adicionalmente se pueden preparar con cubiertas entéricas.

25 Las formas de dosificación líquidas para administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen diluentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como agua. Tales composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, ciclodextrinas, y edulcorantes, saborizantes, y agentes aromatizantes.

30 Los compuestos de la presente invención también pueden ser administrados en la forma de liposomas. Como se conoce en la técnica, los liposomas generalmente se derivan de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas se forman por cristales líquidos hidratados mono- o multilamelares que se dispersan en un medio acuoso. Puede ser utilizado cualquier lípido metabolizable no tóxico, fisiológicamente aceptable y capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposoma puede contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizantes, conservantes, excipientes, y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y las fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar liposomas se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.W., p. 33 et seq. (1976).

40 Mientras que los compuestos de la invención se pueden administrar como el agente farmacéutico activo único, también pueden ser utilizados en combinación con uno o más otros agentes utilizados en el tratamiento del cáncer. Los compuestos de la presente invención también son útiles en combinación con conocidos agentes terapéuticos y agentes anti-cáncer, y combinaciones de los compuestos revelados en la actualidad con otros agentes anti-cáncer o quimioterapéuticos están dentro del alcance de la invención. Ejemplos de tales agentes se pueden encontrar en *Cancer Principles and Practice of Oncology*, V. T. Devita and S. Hellman (editors), 6th edition (Feb. 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la técnica sería capaz de discernir que combinaciones de agentes deben ser útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Tales agentes anti-cáncer incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: moduladores de los receptores de estrógenos, moduladores de los receptores de andrógenos, moduladores de los receptores de retinoides, agentes citotóxicos/citostáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína-prenil transferasa, inhibidores HMG-CoA reductasa y otros inhibidores de la angiogénesis, inhibidores de proliferación celular y supervivencia de la señalización, agentes inductores de la apoptosis y agentes que interfieren con los puntos de control del ciclo celular. Los compuestos de la invención también son útiles cuando se co-administran con terapia de radiación.

55 Por lo tanto, en una modalidad de la invención, los compuestos de la invención también se utilizan en combinación con conocidos agentes anticáncer incluyendo, por ejemplo, moduladores del receptor de estrógenos, moduladores del receptor de andrógenos, moduladores del receptor de retinoides, agentes citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína-prenil transferasa, inhibidores de la HMG- CoA reductasa, inhibidores de proteasa HIV, inhibidores de la transcriptasa reversa, y otros inhibidores de la angiogénesis.

En ciertas modalidades actualmente preferidas de la invención, los agentes representativos útiles en combinación con los compuestos de la invención para el tratamiento del cáncer incluyen, por ejemplo, irinotecan, topotecan, gemcitabina, 5-fluorouracil, leucovorina carboplatino, cisplatino, taxanos, tezacitabina, ciclofosfamida, alcaloides de la vinca, imatinib (Gleevec), antraciclinas, rituximab, trastuzumab, así como otros agentes quimioterapéuticos contra el cáncer.

Los compuestos anteriores que se emplean en combinación con los compuestos de la invención serán utilizados en cantidades terapéuticas como se indica en el Physicians' Desk Reference (PDR) 47th Edition (1993), o tales cantidades terapéuticamente útiles que serían conocidos por un experto en la técnica.

Los compuestos de la invención y los otros agentes anticáncer se pueden administrar en la dosis clínica máxima recuperada o a dosis más bajas. Los niveles de dosificación de los compuestos activos en las composiciones de la invención se pueden variar con el fin de obtener una respuesta terapéutica deseada dependiendo de la ruta de administración, la severidad de la enfermedad y la respuesta del paciente. La combinación se puede administrar como composiciones separadas o como una forma de dosificación unitaria que contiene ambos agentes. Cuando se administra como una combinación, los agentes terapéuticos se pueden formular como composiciones separadas, que se administran en el mismo momento o diferentes momentos, o los agentes terapéuticos, se pueden administrar como una composición única.

La presente invención se entenderá más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos, todos los cuales se proveen a modo de ilustración y no tienen la intención de ser limitantes de la presente invención.

Las cadenas laterales representativas para utilizar en los compuestos de los siguientes ejemplos generalmente se pueden preparar de acuerdo con los siguientes procedimientos:

EJEMPLOS

Haciendo referencia a los siguientes ejemplos, los compuestos de las modalidades preferidas se sintetizaron utilizando los métodos descritos en este documento, u otros métodos, que se conocen en la técnica.

Los compuestos y/o intermedios se caracterizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando un sistema de cromatografía Waters Millennium con un Módulo de Separación 2695 (Milford, MA). Las columnas analíticas fueron de fase reversa Phenomenex Luna C18 - 5 μ , 4.6 x 50 mm, de Alltech (Deerfield, IL). Se utilizó un gradiente de elución (flujo 2.5 mL/min), por lo general iniciando con 5% de acetonitrilo/95% de agua y progresando a 100% de acetonitrilo durante un periodo de 10 minutos. Los solventes contenían ácido trifluoroacético (TFA) al 0.1%. Los compuestos se detectaron por absorción de luz ultravioleta (UV) a ya sea 220 o 254 nm. Los solventes de HPLC fueron de Burdick and Jackson (Muskegan, MI), o Fisher Scientific (Pittsburgh, PA).

En algunos casos, se evaluó la pureza por cromatografía de capa fina (TLC), utilizando placas de sílica gel sobre plástico o vidrio, tales como, por ejemplo, láminas flexibles de Sílica Gel 1B2-F Baker-Flex. Los resultados de TLC se detectaron con facilidad visualmente bajo luz ultravioleta, o empleando la técnica de vapor de yodo y otras diferentes técnicas de tinción bien conocidas.

El análisis de espectrometría de masas se realizó en uno de los tres instrumentos de LCMS: un Sistema Waters (HPLC Alliance HT y un espectrómetro de masas Micromass ZQ; Columna: Eclipse XDB-C18, 2.1 x 50 mm; gradiente: 5-95% (o 35-95%, o 65-95% o 95-95%) acetonitrilo en agua con TFA al 0.05%, durante un periodo de 4 min; velocidad de flujo 0.8 mL/min; rango de peso molecular 200-1500; Voltaje del cono 20 V; temperatura de la columna 40°C), otro Sistema Waters (sistema UPLC ACQUITY y un sistema ZQ 2000; Columna: ACQUITY UPLC HSS-C18, 1.8 μ m, 2.1 x 50mm; gradiente: 5-95% (o 35-95%, o 65-95% o 95-95%) acetonitrilo en agua con TFA al 0.05%, durante un periodo de 1.3 min; velocidad de flujo 1.2 mL/min; rango de peso molecular 150-850; Voltaje del cono 20 V; temperatura de la columna 50°C) o un Sistema Hewlett Packard (HPLC Series 1100; Columna: Eclipse XDB-C18, 2.1 x 50 mm; gradiente: 5-95% de acetonitrilo en agua con TFA al 0.05% durante un periodo de 4 min; velocidad de flujo 0.8 mL/min; rango de peso molecular 150-850; Voltaje del cono 50 V; temperatura de la columna 30°C). Se reportaron todas las masas como las de los iones principales protonados.

El análisis GCMS se realizó en un instrumento Hewlett Packard (cromatógrafo de gases HP6890 Series con un Detector Selectivo de Masas 5973; volumen del inyector: 1 mL; temperatura inicial de la columna: 50°C; temperatura final de la columna: 250°C; tiempo de rampa: 20 minutos; velocidad de flujo de gas: 1 mL/min; columna: 5% de fenil metil siloxano, Modelo No. HP 190915-443, dimensiones: 30.0 m x 25 m x 0.25 m).

El análisis resonancia magnética nuclear (NMR) se puede llevar a cabo con un NMR de 300 o 400 MHz Varian (Palo Alto, CA). La referencia de espectros puede ser cualquiera TMS o el cambio químico conocido del solvente.

La pureza de alguno de los compuestos se evalúa por análisis elemental (Desert Analytics, Tucson, AZ).

Los puntos de fusión se determinan en un equipo Laboratory Devices Mel-Temp (Holliston, MA).

5 Las separaciones preparativas se realizan utilizando un sistema de cromatografía Flash 40 y KP-Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, VA), o por cromatografía de columna instantánea utilizando como material de empaque silica gel (230-400 mallas), o por HPLC utilizando un Waters 2767 Sample Manager, columna de fase reversa C-18, 30X50 mm, flujo 75 mL/min. Los solventes típicos empleados para el sistema Flash 40 Biotage y cromatografía de columna instantánea son diclorometano, metanol, acetato de etilo, hexano, acetona, amoníaco acuoso (o hidróxido de amonio), y trietil amina. Los solventes típicos empleados para el HPLC de fase reversa son concentraciones que varían de acetonitrilo y agua con 0.1 % de ácido trifluoroacético.

10 Se debe entender que los compuestos orgánicos de acuerdo con las modalidades preferidas pueden mostrar el fenómeno de tautomerismo. Como las estructuras químicas dentro de esta especificación puede representar una de las posibles formas tautoméricas, se debe entender que las modalidades preferidas abarcan cualquier forma tautomérica de la estructura dibujada.

Se entiende que la invención no se limita a las modalidades publicadas en este para ilustración, pero abarca todas estas formas de la misma como vienen dentro del alcance de de la divulgación anterior.

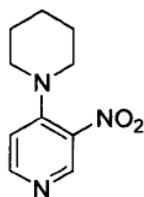
15 Los ejemplos a continuación, así como en toda la aplicación, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si no se define, los términos tienen sus significados generalmente aceptados.

ABREVIATURAS

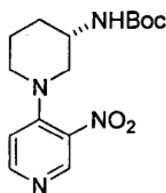
Boc ₂ O	di-tert-butil dicarbonato
DAST	(Dietilamino)sulfurtrifluoruro
DCM	Diclorometano
DIEA	diisopropiletilamina
DtBAD	Di-tert-butil azodicarboxilato
DMA	dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DPPF	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
EDC	1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida clorhidrato
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	Etanol
HOAT	Hidroxiazabenzotriazol
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
NaHCO ₃	bicarbonato de sodio
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida

NMP	N-metil-2-pirrolidona
Pd ₂ (dba) ₃	Tris(dibenzilidenoacetona)dipaladio(0)
Pd(PPh ₃) ₄	Tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
Pd(dppf)Cl ₂ -DCM	Dicloro-(1,2-bis(difenilfosfino)etan)-Paladio(II) - aducto de diclorometano
RT o rt	temperatura ambiente
TDMSCl	Tert-butildimetilsililcloruro
TEA	triethylamina
THF	tetrahidrofurano
Tf ₂ O	Anhídrido triflico

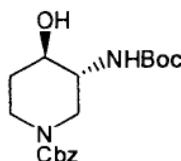
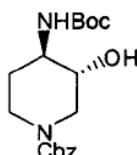
MÉTODO 1

Síntesis de 3-nitro-4-(piperidin-1-il)piridina

- 5 Una solución de 4- cloro- 3- nitropiridina (1.0 equiv.) y piperidina (2.0 equiv.) en etanol, a una concentración de 0.5 M, se agitó a rt, durante 48 horas, momento en que el etanol se retiró *in vacuo*. El residuo se sometió a partición entre EtOAc (300 mL) y Na₂CO₃ (sat.) (75 mL), además se lavó con H₂O (50 mL), NaCl_(sat.) (50 mL), se secó sobre MgSO₄, se filtró y los volátiles se eliminaron *in vacuo*, produciendo la 3- nitro- 4- (piperidin- 1- il) piridina (95%).
- 10 LCMS (*m/z*): 207.7 (MH⁺); R_t LC = 1.60 min. ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.80 (s, 1H), 8.31 (d, J=5.7, 1H), 6.84 (d, J=6.3, 1H), 3.18- 3.21 (m, 4H), 1.64- 1.78 (m, 6H).

Síntesis de (S)-tert-butil 1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

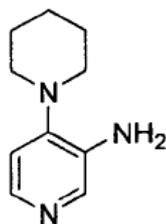
- 15 Se siguió el Método 1, utilizando 1 eq de cada uno de 4- cloro- 3- nitropiridina, (S)- 3- N- Boc- amino piperidina y diisopropiletilamina, produciendo el (S)- tert- butil 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, (99 %). LCMS (*m/z*) : 323.1 (MH⁺); R_t LC = 2.13 min.

Síntesis de trans (+/-)-Benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilatoSíntesis de trans (+/-)-Benzil 4-(tert-butoxicarbonilamino)-3-hidroxipiperidina-1-carboxilato

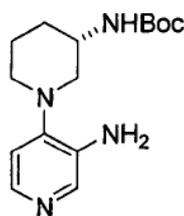
- 5 Se calentó una solución de (+/-) benzil 7- oxa- 3- azabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato (1.0 equiv.) en solución acuosa saturada de hidróxido de amonio y etanol (1: 1, solución 0.05 M) en una bomba de acero sellada, a 70 °C, durante 5 h. Después de que todos los materiales volátiles se eliminaron por medio de un corriente de gas de N₂, se adicionaron acetato de etilo y agua para el tratamiento final. La mezcla regioisomérica cruda, benzil 3- amino- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato y benzil 4- amino- 3- hidroxipiperidina-1- carboxilato se hizo reaccionar con Boc₂O (1.0 equiv.) y trietilamina (1.0 equiv.) en diclorometano (solución 0.1 M). Después de la agitación, durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue extraída con diclorometano. Fueron obtenidos el (+/-)-benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato polar y (+/-)- benzil 4- (tert- butoxicarbonilamino)-3- hidroxipiperidina- 1- carboxilato no-polar, por cromatografía de columna instantánea (20% a 40% EtOAc en hexanos, 28%, 51% cada uno). LCMS (*m/z*): 351.1 (MH⁺), R_t = 0.81 min, LCMS (*m/z*) : 351.1 (MH⁺), R_t = 0.83 min. El (3S, 4S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato enantioméricamente puro y (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato se resolvieron por HPLC quiral (Para el análisis R_t = 6.8 min y 9.1 min respectivamente; n- heptano: etanol= 70: 30 (v: v), Chiralpak AD- H prep 250X4.6 mm a 1 mL/min. Para la separación preparativa, n- heptano: etanol = 80: 20 (v: v), Chiralpak AS 50 x 500 mm. a 90 mL/min).

MÉTODO 2

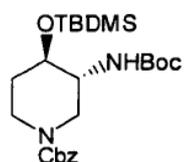
- 20 Síntesis de 4-(piperidin-1-il)piridin-3-amina



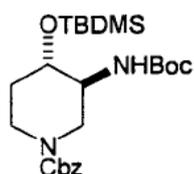
- 25 A una solución de 3- nitro- 4- (piperidin- 1- il) piridina (1.0 equiv.) en etanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó paladio sobre carbón al 10% (0.1 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 15 horas. En este momento, la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo la 4- (piperidin- 1- il) piridin- 3- amina (93%) como un aceite. LCMS (*m/z*): 178.0 (MH⁺); R_t LC = 1.68 min. ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.01 (s, 1H), 7.96 (d, J=5.4, 1H), 6.78 (d, J=5.1, 1H), 3.64- 3.74 (m, 2H), 2.86- 2.94 (m, 4H), 1.66- 1.78 (m, 4H), 1.58- 1.64 (m, 2H) .

Síntesis de (S)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

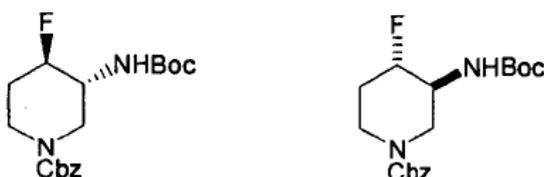
Siguiendo el Método 2, se redujo el (S)- tert- butil 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el (S)-tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, (78%). LCMS (m/z) : 293.1 (MH^+) ; R_t LC = 2.08 min.

5 Síntesis de (3R, 4R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(tert-butildimetilsililoxi)piperidina-1-carboxilato

10 A una solución de (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en diclorometano (solución 0.1 M), se le adicionó secuencialmente imidazol (1.1 equiv.), DMAP (0.1 equiv.), y TBDMSCI (1.1 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 20 h. Después del tratamiento con diclorometano, el material crudo se purificó por cromatografía de columna de silica (10% a 20% EtOAc en hexanos) produciendo el (3R, 4R)-benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidina- 1- carboxilato (76%). LCMS (m/z) : 365.2 [(M- Boc) H^+] ; R_t LC = 6.05 min.

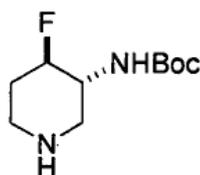
Síntesis de (3S, 4S)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(tert-butildimetilsililoxi)piperidina-1-carboxilato

15 A una solución de (3S, 4S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en diclorometano (solución 0.1 M), se le adicionó secuencialmente imidazol (1.1 equiv.), DMAP (0.1 equiv.), y TBDMSCI (1.1 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 20 h. Después del tratamiento con diclorometano, el material crudo se purificó por cromatografía de columna de silica (10% a 20% EtOAc en hexanos), produciendo el (3S, 4S)-benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidina- 1- carboxilato. LCMS (m/z) : 365.2 [(M- Boc) H^+] ; R_t LC = 6.05 min.

Síntesis de (3R, 4R)-Benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-fluoropiperidina-1-carboxilato y (3S,4S)-Benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-fluoropiperidina-1-carboxilato

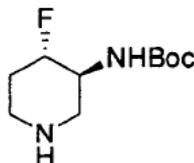
5 A una solución de (+/-) - benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en diclorometano (0.3 M solución), se le adicionó DAST a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente, durante 15 h. Después se apagó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, para el tratamiento se adicionaron acetato de etilo y agua. Se obtuvo el (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- fluoropiperidina- 1- carboxilato por cromatografía de columna de sílica (30% de EtOAc en hexanos, 40%). LCMS (m/z): 253.1 [(M- Boc) H⁺]; R_t LC = 4.08 min. El (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- fluoropiperidina- 1- carboxilato enantioméricamente puro y el (3S, 4S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- fluoropiperidina- 1- carboxilato, se resolvieron por HPLC quiral (para el análisis: R_t = 9.4 min y 12.6 min respectivamente; n- heptano: isopropanol = 90: 10 (v: v), Chiralpak AS 250 x 4.6 mm a 1 mL/min. Para la separación preparativa, n- heptano: isopropanol = 90: 10 (v: v), Chiralpak AS 50 x 500 mm. a 90 mL/min) .

Síntesis de tert-butil (3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-ilcarbamato



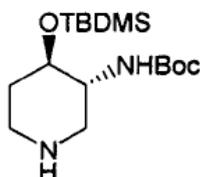
15 Se siguió el Método 2, utilizando (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilainino)- 4- fluoropiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 4- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato crudo, (93%). LCMS (m/z) : 219.2 (MH⁺), R_t LC = 0.45 min.

Síntesis de tert-butil (3S,4S)-4-fluoropiperidin-3-ilcarbamato

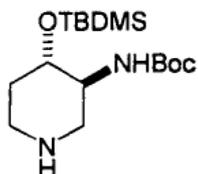


20 Se siguió el Método 2 utilizando el (3S, 4S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- fluoropiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.), produciendo el (+/-)- tert- butil 4- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato crudo, (93%). LCMS (m/z): 219.2 (MH⁺), R_t LC = 0.45 min.

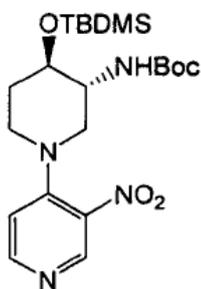
Síntesis de tert-butil (3R,4R)-4-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato



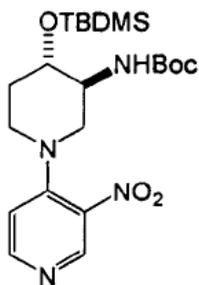
25 Se siguió el Método 2, utilizando el (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato crudo, (>99%). LCMS (m/z): 331.3 (MH⁺).

Síntesis de tert-butil (3R, 4R)-4-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato

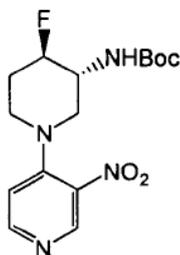
5 Se siguió el Método 2, utilizando el (3S, 4S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.), produciendo el tert- butil (3S, 4S)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato crudo, (>99%) . LCMS (m/z) : 331.3 (MH^+) .

Síntesis de tert-butil (3R, 4R)-4-(tert-butildimetilsililoxi)-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

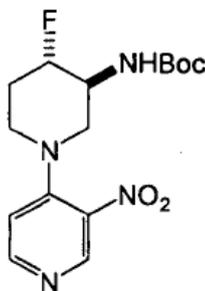
10 Se siguió el Método 1, utilizando 1 eq de cada uno de 4- cloro- 3- nitropiridina, tert- butil (3R, 4R)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato y trietilamina en DMF, produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 4- (tert- butildimetilsililoxi)-1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, (98%). LCMS (m/z) : 453.3 (MH^+); R_t LC = 4.01 min.

Síntesis de tert-butil (3S,4S)-4-(tert-butildimetilsililoxi)-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

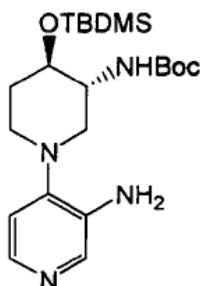
15 Se siguió el Método 1, utilizando 1 eq de cada uno de 4- cloro- 3- nitropiridina, tert- butil (3S, 4S)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato y trietilamina en DMF, produciendo el tert- butil (3S, 4S)- 4- (tert- butildimetilsililoxi)-1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, (98%). LCMS (m/z): 453.3 (MH^+); R_t LC = 4.01 min.

Síntesis del tert-butil (3R,4R)-4-fluoro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

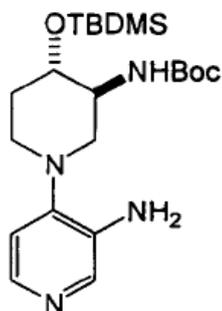
5 Se siguió el Método 1 del Ejemplo 1, utilizando 1 eq de cada uno de 4- cloro- 3- nitropiridina, tert- butil (3R, 4R)- 4- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato y trietilamina en etanol, produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 4- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4-il) piperidin- 3- ilcarbamato, (91 %). LCMS (m/z): 341.0 (MH^+); R_t LC = 2.37 min.

Síntesis de tert-butil (3S,4S)-4-fluoro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

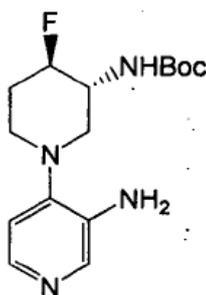
10 Se siguió el Método 1 del Ejemplo 1, utilizando 1 eq de cada uno de 4- cloro- 3- nitropiridina, tert- butil (3S, 4S)- 4- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato y trietilamina en etanol, produciendo el tert- butil (3S, 4S)- 4- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4-il) piperidin- 3- ilcarbamato, (91%). LCMS (m/z): 341.0 (MH^+); R_t LC = 2.37 min.

Síntesis de tert-butil (3R, 4R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-4-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato

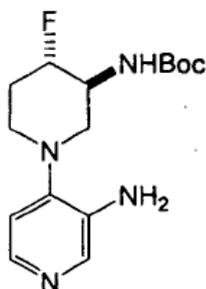
15 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3R, 4R)- 4- (tert- butildimetilsililoxi)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- il- carbamato en etanol y el acetato de etilo (1:1, solución 0.1 M), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 1- (3- aminopiridin-4- il)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato, (>99%). LCMS (m/z): 423.2 (MH^+); R_t LC = 3.78 min.

Síntesis de tert-butil (3S,4S)-1-(3-aminopiridin-4-il)-4-tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato

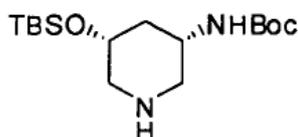
5 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3R, 4R)- 4- (tert- butildimetilsililoxi)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- il-carbamato en etanol y acetato de etilo (1: 1, solución 0.1 M), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 4- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato, (>99%) . LCMS (*m/z*): 423.2 (MH⁺); R_t LC = 3.78 min.

Síntesis de tert-butil (3R, 4R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-4-fluoropiperidin-3-ilcarbamato

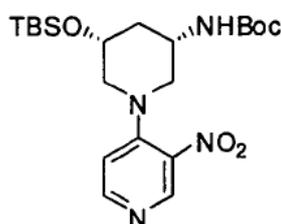
10 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3R, 4R)- 4- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato en etanol y acetato de etilo (1: 1, solución 0.1 M), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 4- fluoropiperidin-3- ilcarbamato, (>99%). LCMS (*m/z*): 311.2 (MH⁺); R_t LC = 2.14 min.

Síntesis de tert-butil (3S, 4S)-1-(3-aminopiridin-4-il)-4-fluoropiperidin-3-ilcarbamato

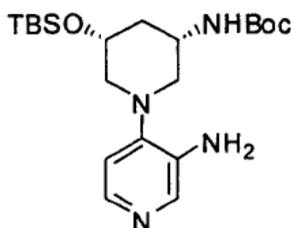
15 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3S, 4S)- 4- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato en etanol y acetato de etilo (1: 1, solución 0.1 M), produciendo el tert- butil (3R, 4R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 4- fluoropiperidin-3- il-carbamato, (>99%). LCMS (*m/z*): 311.2 (MH⁺); R_t LC = 2.14 min.

Síntesis de tert-butil (3S,5R)-5-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato

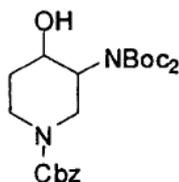
Se preparó el tert- butil (3S, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato de acuerdo con el procedimiento de la patente como se describe por Y, Zhou; WO2005028467.

5 Síntesis de tert-butil (3S, 5R)-5-(tert-butildimetilsililoxi)-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

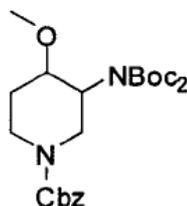
Se siguió el Método 1, utilizando el tert- butil (3S, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3-ilcarbamato, produciendo el tert- butil (3S, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (m/z): 453.2 (MH⁺).

10 Síntesis de tert-butil (3S, 5R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ilcarbamato

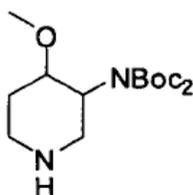
Se siguió el Método 2, utilizando el tert- butil (3S, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin-3-ilcarbamato, produciendo tert- butil (3S, 5R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (m/z) : 423.2 (MH⁺) .

15 Síntesis de trans (+/-)-benzil 3-(bis(tert-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato

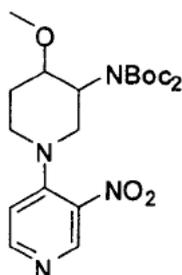
20 A una solución de trans (+/-) - benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en DCM y CH₃CN (1: 1, 0.14 M), se le adicionó BOC₂O (1.0 equiv.), trietilamina (1.5 equiv.), y DMAP (cantidad catalítica). La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 15 h, después de este tiempo la solución se concentró y purificó a través de cromatografía de columna de silica gel eluyendo con EtOAc y hexanos (1: 6) para proporcionar el producto deseado como una espuma de color blanco. LCMS (m/z): 451.1 (MH⁺).

Síntesis de trans (+/-)-benzil 3-(bis(tert-butoxicarbonil)amino)-4-metoxipiperidina-1-carboxilato

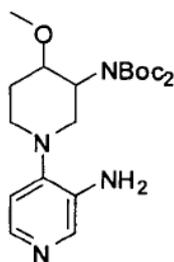
- 5 A una solución de NaH (1.3 equiv.) en THF (0.1M), se le adicionó benzil 3- (bis (tert- butoxicarbonil) amino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) y se calentó la reacción a 50 °C, durante 10 min. Bajo el enfriamiento a temperatura ambiente, se adicionó Mel (1.5 equiv.), y la solución se dejó agitar, durante 16 h. La reacción se apagó con agua, a continuación se extrajo con EtOAc, la capa orgánica se secó con salmuera y Na₂SO₄, y se concentró. El material crudo se purificó vía cromatografía de columna de sílica gel eluyendo con EtOAc y hexanos (1: 3), para proporcionar un aceite claro con un rendimiento del 71%. LCMS (*m/z*): 365.0 (MH⁺).

Síntesis de trans (+/-)-3-(bis(tert-butoxicarbonil)amino)-4-metoxipiperidina

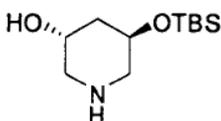
- 10 Se siguió el Método 2, utilizando el trans (+/-) - benzil 3- (bis (tert- butoxicarbonil) amino)- 4- metoxipiperidina-1- carboxilato (1.0 equiv.), produciendo la trans (+/-) - 3- (bis (tert- butoxicarbonil) amino)- 4- metoxipiperidina cruda que se utilizó para la siguiente etapa sin una purificación adicional. LCMS (*m/z*): 331.2 (MH⁺)

Síntesis de trans (+/-)-N,N-di-BOC-4-metoxi-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-amina

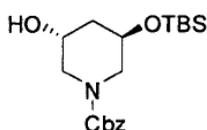
- 15 Se siguió el Método 1, utilizando la trans (+/-)- 3- (bis (tert- butoxicarbonil) amino)- 4- metoxipiperidina (1.0 equiv.), 4- cloro- 3- nitropiridina (1.2 equiv.), y DIEA (4.0 equiv.) para proporcionar la trans (+/-) - N, N- di- BOC- 4- metoxi- 1- (3-nitropiridin- 4- il)- piperidin- 3- amina después de la cromatografía de columna (EtOAc y hexanos, 50%) con un rendimiento del 59%, durante dos etapas. LCMS (*m/z*): 453.2 (MH⁺), R_t LC = 3.24 min.

Síntesis de trans (+/-)-N,N-di-BOC-4-metoxi-1-(3-aminopiridin-4-il)piperidin-3-amina

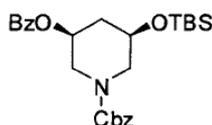
Se siguió el Método 2, utilizando la trans (+/-) - N, N- di- BOC- 4- metoxi- 1- (3- nitropiridin- 4- il)- piperidin- 3-amina para proporcionar la trans (+/-)- N, N- di- BOC- 4- metoxi- 1- (3- aminopiridin- 4- il) piperidin- 3- amina con un rendimiento >95%, como un aceite claro. LCMS (*m/z*) : 423.0 (MH⁺), R_t LC = 3.10 min.

5 Síntesis de (3R,5R)-5-(tert-butildimetilsililoxi)piperidin-3-ol

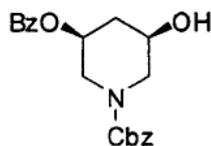
Se preparó el (3R, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ol de acuerdo con el procedimiento de la patente como se describe por Zhou, Y. WO2005028467.

Síntesis de (3R,5R)-benzil 3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-hidroxipiperidina-1-carboxilato

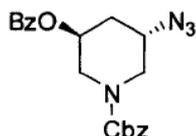
10 A una solución de (3R, 5R)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidin- 3- ol (1 eq) en 20 mL de 1, 4- dioxano y 8 mL de agua se le adicionó benzil clorofornato (1.5 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente, durante 4 horas. La mezcla cruda se diluyó con 100 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1:3), para producir el (3R, 5R)- benzil 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (74%). LC/MS (*m/z*) : 366.2 (MH⁺).

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-(benzoiloxi)-5-(tert-butildimetilsililoxi)piperidina-1-carboxilato

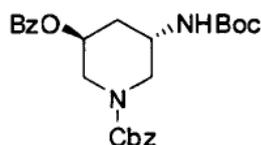
20 A una solución agitada a 0°C de trifenilfosfina (1.2 equiv) en 23 mL de THF se le adicionó di- tert- butil azodicarboxilato (1.2 equiv). La mezcla se agitó a 0°C, durante 10 minutos. A continuación, se adicionó una solución de (3R, 5R)- benzil 3- (tertbutildimetilsililoxi)-5- hidroxipiperidien- 1- carboxilato (1.0 equiv) en 11 mL de THF y se agitó durante 20 minutos a 0°C. A continuación, se adicionó ácido benzoico (1.2 equiv) y la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a rt. Después de 16 horas la mezcla de reacción se concentró *in vacuo*, luego se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y a continuación salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 8), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- (tert- butilo- dimetilsililoxi) piperidina- 1- carboxilato (77%). LC/MS (*m/z*) : 470.2 (MH⁺), R_t HPLC = 6.05 min.

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-(benzoiloxi)-5-hidroxipiperidina-1-carboxilato

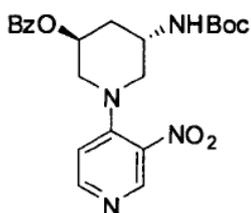
5 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- (tert- butil- dimetilsililoxi)- piperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 30 mL de metanol, se le adicionó HCl 3.8M en isopropanol (4 eq). La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente, durante 3 horas momento en el que se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1 : 1) para producir el (3S, 5R)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (95%) . LC/MS (*m/z*) : 355.9 (MH⁺). HPLC: R_t: 3.62 min.

10 Síntesis de (3S,5S)-benzil 3-azido-5-(benzoiloxi)piperidina-1-carboxilato

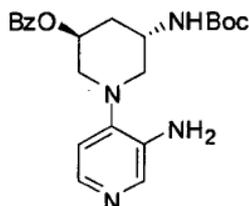
15 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 20 mL de diclorometano se le adicionó trietil amina (3 eq) y metanosulfonil cloruro (1.5 eq) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla cruda se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se disolvió en 25 mL de NMP. Se adicionó azida sódica (2.2eq), y la suspensión resultante se agitó a 80°C, durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 200 mL de EtOAc y 100 mL de hexanos, se lavó con agua, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 2) para producir el (3S, 5S)- benzil 3- azido- 5- (benzoiloxi) piperidina- 1- carboxilato (88%). LC/MS (*m/z*) : 381.0 (MH⁺) . HPLC: R_t: 4.41 min.

20 Síntesis de (3S,5S)-benzil 3-(benzoiloxi)-5-(tert-butoxicarbonilamino)-piperidina-1-carboxilato

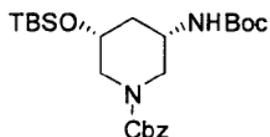
25 A una solución de (3S, 5S)- benzil 3- azido- 5- (benzoiloxi) piperidina- 1- carboxilato (1 eq) en una mezcla de 14 mL de piridina y 2 mL de hidróxido de amonio, se le adicionó trimetilfosfina 1M (3 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 3 horas, momento en el que los solventes se eliminaron, bajo presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite se disolvió otra vez en 100 mL de etanol y se concentró para eliminar completamente el hidróxido de amonio. El residuo se disolvió en 24 ml de 1, 4- dioxano y se adicionaron 24 mL de NaHCO₃ *sat. ac.*. Se adicionaron gota a gota di- tert- butil dicarbonato (4 eq) en 12 mL de THF a 0°C. La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla cruda se diluyó con 200 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 2) para producir el (3S, 5S)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- (tert- butoxicarbonilamino)- piperidina- 1- carboxilato (92%). LC/MS (*m/z*) : 455.1 (MH⁺) . HPLC: R_t: 4.38 min.

Síntesis de (3S, 5S)-5-(tert-butoxicarbonilamino)-1-(3-nitropiridin-4-il)-piperidin-3-il benzoato

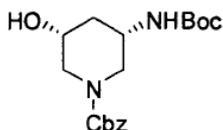
5 A una solución de (3S, 5S)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- (tert- butoxicarbonilamino)- piperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 15 metanol y 15 mL de EtOAc, se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante 4 horas. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavó con MeOH, luego se concentró *in vacuo*. El residuo se disolvió en 20 mL de isopropanol y se adicionaron DIPEA (1.8 eq) y 4-cloro- 3- nitropiridina (1.2 eq). La mezcla de reacción se agitó a 75°C, durante 2 horas, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 1) para producir el (3S, 5S)- 5- (tert- butoxicarbonilamino)-1- (3- nitropiridin- 4- il)- piperidin- 3- il benzoato (90%) . LC/MS (*m/z*) : 443.2 (MH⁺) . HPLC: R_t: 2.89 min.

Síntesis de (3S, 5S)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-(tert-butoxicarbonilamino)piperidin-3-il benzoato

15 Siguiendo el Método 2, se redujo el (3S, 5S)- 5- (tert- butoxicarbonilamino)- 1- (3- nitropiridin- 4- il)- piperidin- 3- il benzoato, para producir el (3S, 5S)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- (tert- butoxicarbonilamino) piperidin- 3- il benzoato. LC/MS (*m/z*) : 413.1 (MH⁺) . HPLC: R_t: 2.75 min.

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-(tert-butildimetilsililoxi)piperidina-1-carboxilato

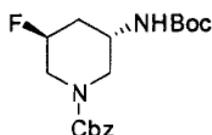
20 Se siguió el Método para la síntesis de (3S, 5S)- benzil 3- (benzoiloxi)- 5- (tert- butoxicarbonilamino)- piperidina-1- carboxilato iniciando a partir de (3R, 5R)- benzil 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato. LC/MS (*m/z*) : 365.2 (MH⁺- Boc), R_t: 1.37.

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-hidroxipiperidina-1-carboxilato

25 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- (tert- butildimetilsililoxi) piperidina- 1-carboxilato (1eq) en 30 mL de THF, se le adicionaron 5.2 mL de TBAF (1.2eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (5%

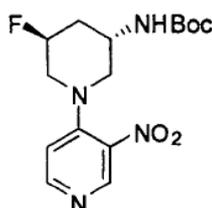
metanol en EtOAc: hexanos= 1: 1), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (100%). LC/MS (m/z) : 251.2 (MH^+), R_t : 0.89. HPLC: R_t : 3.26 min.

Síntesis de (3S, 5S)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-fluoropiperidina-1-carboxilato



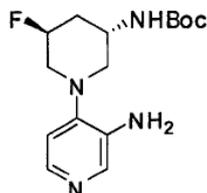
- 5 A una solución del (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 5 mL de diclorometano, se le adicionó DAST (1.35 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla se diluyó con 120 mL de acetato de etilo, se lavó con salmuera, luego se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1 : 3), para producir el tert- butil (3S, 5S)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato (30%) . LC/MS
- 10 (m/z) : 253.1 (MH^+ - 100), R_t = 0.96 min. HPLC: R_t : 3.79 min.

Síntesis de tert-butil (3S,5S)-5-fluoro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

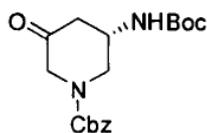


- 15 A una solución de (3S, 5S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- fluoropiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 5 metanol y 5 mL de EtOAc se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H_2 , durante 4 horas. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavaron con MeOH, luego se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en 5 mL de isopropanol y se
- 20 adicionaron DIPEA (1.8 eq) y 4- cloro- 3- nitropiridina (1.5 eq). La mezcla de reacción se agitó a 65°C, durante 3 horas, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 1), para proporcionar el tert- butil (3S, 5S)- 5- fluoro- 1- (3-nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (78%). LC/MS (m/z) :

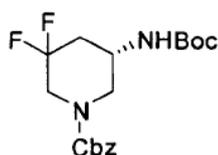
Síntesis de tert-butil (3S,5S)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-fluoropiperidin-3-ilcarbamato



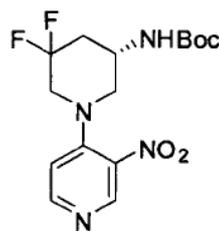
- 25 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3S, 5S)- 5- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, para producir el tert- butil (3S, 5S)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (m/z) : 311.1 (MH^+), R_t = 0.54 min. HPLC: R_t : 1.76 min.

Síntesis de (S)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-oxopiperidina-1-carboxilato

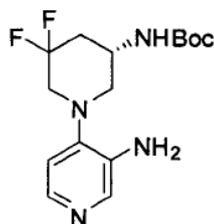
- 5 A una solución del (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1eq) en 10 mL de diclorometano, se le adicionó periodinano de Dess- Martin (1.2 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura, durante la noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1:2), para producir el (S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- oxopiperidina- 1- carboxilato (81%) . LC/MS (*m/z*) : 249.1 (MH⁺- 100), R_t: 0.83 min. HPLC: R_t: 3.26 min.

Síntesis de 5-(tert-butoxicarbonilamino)-3,3-difluoropiperidina-1-carboxilato

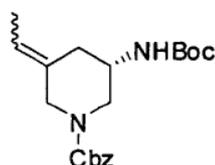
- 10 A una solución del (S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- oxopiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 25 mL de diclorometano, se le adicionó DAST (20eq). La mezcla de reacción se agitó 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se apagó mediante bicarbonato de sodio *ac.*. La mezcla resultante fue extraída con acetato de etilo. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*.
 15 El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 2), para producir el 5- (tert- butoxicarbonilamino)- 3, 3-difluoropiperidina- 1- carboxilato (52%). LC/MS (*m/z*) : 271.1 (- Boc), R_t: 0.99min.

Síntesis de (S)-tert-butil 5,5-difluoro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

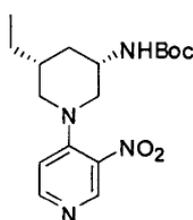
- 20 A una solución de 5- (tert- butoxicarbonilamino)- 3, 3- difluoropiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 5 mL de metanol y 5 mL de EtOAc, se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante la noche. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavaron con MeOH, luego se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en 5 mL de isopropanol y se adicionaron DIPEA (2.0 eq) y 4- cloro- 3- nitropiridina (1.5 eq). La mezcla de reacción se agitó a 70°C, durante 3 horas, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*.
 25 El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (5 % de metanol en EtOAc: hexanos = 1: 1), para producir el (S)- tert- butil 5, 5- difluoro- 1- (3- nitropiridin-4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (19%). LC/MS (*m/z*) : 359.0 (MH⁺), R_t: 0.65 min.

Síntesis de (S)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)-5,5-difluoropiperidin-3-ilcarbamato

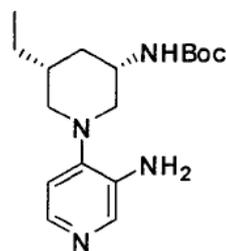
Seguendo el Método 2, se redujo el (S)- tert- butil 5, 5- difluoro- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato para producir el (S)- tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5, 5- difluoropiperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (*m/z*) : 329.0 (MH⁺), R_t: 0.62 min.

5 Síntesis de (S)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-etilidenopiperidina-1-carboxilato

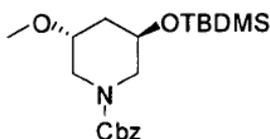
A una suspensión de bromuro de etiltrifenilfosfonio (11 eq) en 14 mL de THF, se le adicionó terbutóxido de potasio (10eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura, durante 20 minutos. A continuación, la reacción se dejó enfriar a 0°C, y se adicionó el (S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- oxopiperidina- 1- carboxilato (1eq) en 7 mL de THF a la mezcla de reacción. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de agitar, durante 40 minutos, la mezcla de reacción se vertió en bicarbonato de sodio *ac.* y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 2: 1), para producir el (S)- benzil 3- (tertbutoxicarbonilamino)-5- etilidenopiperidina- 1- carboxilato. LC/MS (*m/z*) : 261.2 (MH⁺- 100), R_t: 1.12 min. HPLC: R_t: 4.31 min.

Síntesis de tert-butil (3S,5R)-5-etil-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

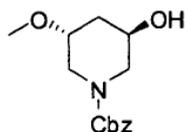
A una solución de (S)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- etilidenopiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 5.5 mL de etanol y 5.5 mL de EtOAc, se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante 45 minutos. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavó con MeOH, luego se concentró *in vacuo*. El residuo se disolvió en 1.4 mL de isopropanol y se adicionaron DIPEA (2.5 eq) y 4-cloro- 3- nitropiridina (1.5 eq). La mezcla de reacción se agitó a 80°C, durante la noche, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 1), para producir el tert- butil (3S, 5R)- 5- etil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (91%). LC/MS (*m/z*) : 351.2 (MH⁺), R_t: 0.75 min.

Síntesis de tert-butil (3S, 5R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-etilpiperidin-3-ilcarbamato

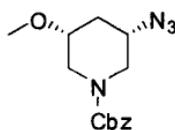
Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3S, 5R)- 5- etil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato para producir el tert- butil (3S, 5R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- etilpiperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (*m/z*) : 321.2 (MH⁺), R_t: 0.73 min. HPLC: R_t: 2.65 min.

5 Síntesis de (3R, 5R)-benzil 3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-metoxipiperidina-1-carboxilato

10 A una solución de (3R, 5R)- benzil 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 30 mL de THF, se le adicionó hidruro de sodio (1.5 eq) y seguido por yoduro de metilo (5 eq) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 3 horas. La mezcla cruda se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 5), para producir el (3R, 5R)- benzil 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metoxipiperidina-1- carboxilato (93%). LC/MS (*m/z*) : 380.2 (MH⁺) .

Síntesis de (3R,5R)-benzil 3-hidroxi-5-metoxipiperidina-1-carboxilato

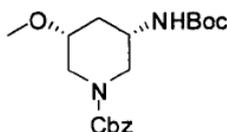
15 A una solución de (3R, 5R)- benzil 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 30 mL de metanol, se le adicionó HCl 3.8M en isopropanol (4 eq). La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente, durante 3 horas momento en el que se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con 100 mL de EtOAc, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 2: 1), para producir el (3R, 5R)- benzil 3- hidroxi- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (92%) . LC/MS (*m/z*) : 266.2 (MH⁺) .

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-azido-5-metoxipiperidina-1-carboxilato

25 A una solución de (3R, 5R)- benzil 3- hidroxi- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 40 mL de diclorometano se le adicionó trietil amina (3 eq) y metanosulfonil cloruro (1.5 eq) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla cruda se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 1) para proporcionar el intermedio, que se disolvió en 15

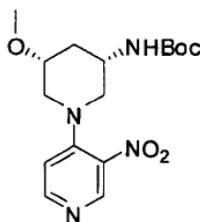
5 mL de DMF. Se le adicionó azida sódica (3.3 eq) y la suspensión resultante se agitó a 80°C, durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con agua, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 2), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- azido- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (95%). LC/MS (*m/z*) : 263.2 (MH⁺-28) .

Síntesis del (3S, 5R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-metoxipiperidina-1-carboxilato



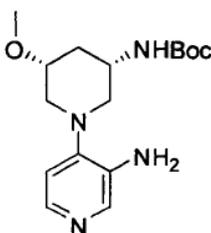
10 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- azido- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en una mezcla de 14 mL de piridina y 2 mL de hidróxido de amonio, se le adicionó trimetilfosfina 1M (3 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 4 horas momento en el que los solventes se eliminaron bajo presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite se disolvió otra vez en 100 mL de etanol y se concentró para eliminar completamente el hidróxido de amonio. El residuo se disolvió en 16 ml de 1, 4- dioxano y se adicionó 16 mL de NaHCO₃ sat. ac.. Se adicionó gota a gota di- tertbutil dicarbonato (4 eq) en 8 mL de THF a 0°C. La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla cruda se diluyó con 300 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos= 1: 1), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- (tert-butoxicarbonilamino)- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (86%). LC/MS (*m/z*) : 365.0 (MH⁺) .

Síntesis de tert-butyl (3S, 5R)-5-metoxi-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato



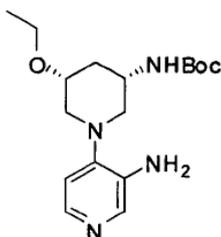
20 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- metoxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 25 de metanol, se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante 2 horas. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavó con MeOH, luego se concentró *in vacuo*. El residuo se disolvió en 25 mL de isopropanol y se adicionaron DIEA (1.8 eq) y 4- cloro- 3- nitropiridina (1.2 eq). La mezcla de reacción se agitó a 80°C, durante 4 horas, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (5% metanol en EtOAc: hexanos = 1: 1), para producir el (3S, 5R)- 5- metoxi- 1- (3- nitropiridin- 4-il) piperidin- 3- ilcarbamato (88%) . LC/MS (*m/z*) : 353.0 (MH⁺) . HPLC: R_t: 2.15 min.

30 Síntesis de tert-butyl (3S,5R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-metoxipiperidin-3-ilcarbamato



Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3S, 5R)- 5- metoxi- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el tert- butil (3S, 5R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- metoxipiperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (*m/z*) : 323.1 (MH⁺).

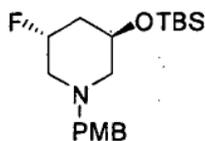
Síntesis de tert-butil (3S, 5R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-etoxipiperidin-3-ilcarbamato



5

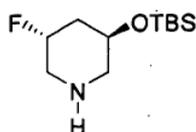
El procedimiento para preparar este compuesto es el mismo que el del compuesto metoxi. LC/MS (*m/z*): 337.1 (MH⁺), R_t: 0.63 min. HPLC: R_t: 2.47 min.

Síntesis de (3R, 5R)-3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-fluoro-1-(4-metoxibenzil)piperidina



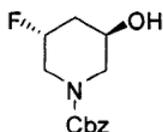
- 10 Se preparó la (3R, 5R)- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- fluoro- 1- (4- metoxibenzil)- piperidina de acuerdo con el procedimiento de literatura como se describe por Cossy, J. Synlett, 2007, 263.

Síntesis de (3R, 5R)-3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-fluoropiperidina

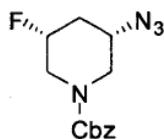


- 15 A una solución de (3R, 5R)- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- fluoro- 1- (4- metoxibenzil) piperidina (1 eq) en 5 mL de metanol, se le adicionó Pd/C al 10% (0.2 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante la noche. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavaron con MeOH, luego se concentraron *in vacuo* para producir la (3R, 5R)- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- fluoropiperidina, que se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (*m/z*) : 234.1 (MH⁺) .

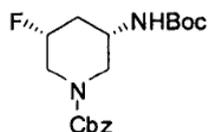
Síntesis de (3R, 5R)-benzil 3-fluoro-5-hidroxipiperidina-1-carboxilato



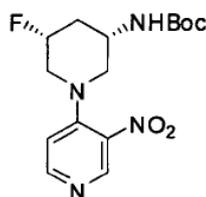
- 20 A una solución de (3R, 5R)- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- fluoropiperidina (1 eq) en 30 mL de metanol, se le adicionó HCl 3.8M en isopropanol (4 eq). La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente, durante 3 horas momento en el que se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con 120 mL de EtOAc, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*.
- 25 El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 2: 1) para proporcionar (3R, 5R)- benzil 3- fluoro- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato, (94%). LC/MS (*m/z*) : 254.2 (MH⁺) .

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-azido-5-fluoropiperidina-1-carboxilato

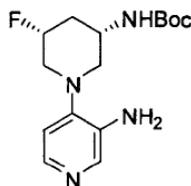
5 A una solución de (3R, 5R)- benzil 3- fluoro- 5- hidroxipiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 14 mL de diclorometano, se le adicionó trietil amina (3 eq) y metanosulfonyl cloruro (1.5 eq) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 1.5 horas. La mezcla cruda se diluyó con 120 mL de dietil éter, se lavó con bicarbonato de sodio *sat. ac.*, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se disolvió en 16 mL de NMP. Se le adicionó azida sódica (3.0 eq) y la suspensión resultante se agitó a 80°C, durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 200 mL de EtOAc y 100 mL de hexanos, se lavó con agua, salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 3), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- azido- 5- fluoropiperidina- 1- carboxilato (90%). LC/MS (*m/z*) : 251.1 (MH⁺- 28) .

Síntesis de (3S, 5R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-fluoropiperidina-1-carboxilato

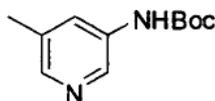
15 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- azido- 5- fluoropiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en una mezcla de 11 mL de piridina y 1.5 mL de hidróxido de amonio se le adicionó trimetilfosfina 1M (3 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 3 horas, momento en el que los solventes se eliminaron bajo presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite se disolvió otra vez en 100 mL de etanol y se concentró para eliminar completamente el hidróxido de amonio. El residuo se disolvió en 12 ml de 1, 4- dioxano y se adicionaron 12 mL de NaHCO₃ *sat. ac.*. Se adicionó gota a gota di- tert-butyl dicarbonato (4 eq) en 6 mL de THF a 0°C. La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 1 hora. La mezcla cruda se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1: 1), para producir el (3S, 5R)- benzil 3- (tert-butoxicarbonilamino)- 5- fluoropiperidina- 1- carboxilato (95 %). LC/MS (*m/z*) : 253.1 (MH⁺- 100) .

Síntesis de tert-butil (3S, 5R)-5-fluoro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

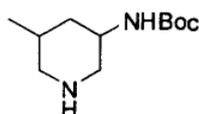
25 A una solución de (3S, 5R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- fluoropiperidina- 1- carboxilato (1 eq) en 28 de metanol, se le adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La suspensión resultante se agitó en una atmósfera de H₂, durante 1 hora. Los sólidos crudos se filtraron a través de un lecho de Celite en un embudo Buchner forrado con papel, se lavó con MeOH, luego se concentró *in vacuo*. El residuo se disolvió en 33 mL de isopropanol y se adicionaron DIPEA (2.5 eq) y 4- cloro- 3- nitropiridina (1.5 eq). La mezcla de reacción se agitó a 80°C, durante 2 horas, momento en el que la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con salmuera, luego se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (5% de metanol en EtOAc: hexanos= 1: 1), para producir el tert- butil (3S, 5R)- 5- fluoro- 1- (3- nitropiridin-4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (90%). LC/MS (*m/z*) : 341.1 (MH⁺). HPLC: R_t: 2.12 min.

Síntesis de tert-butil (3S,5R)-1-(3-aminopiridin-4-il)-5-fluoropiperidin-3-ilcarbamato

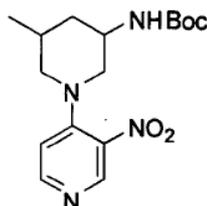
5 Siguiendo el Método 2, se redujo el tert- butil (3S, 5R)- 5- fluoro- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el tert- butil (3S, 5R)- 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- fluoropiperidin- 3- ilcarbamato. LC/MS (*m/z*) : 311.1 (MH^+) .

Síntesis de tert-butil 5-metilpiridin-3-ilcarbamato

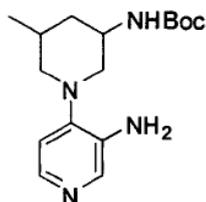
10 A una solución de 5- metilpiridin- 3- amina (5 g, 46mmol) en THF (80 mL) a r.t., se le adicionó sodio bis (trimetilsililamida) 1M en THF (101 mL, 101 mmol), se agitó durante 15 min, seguido por di- tert- butildicarbonato (11 g, 49 mmol) en THF (20 mL). La reacción se agitó a r.t., durante la noche y se concentró. El concentrado se trató con HCl 0.2M (60 mL) y EtOAc, y la capa orgánica fue extraída, se lavó con NaHCO₃ (sat.) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró. El concentrado se purificó utilizando cromatografía instantánea sobre silica gel (40% de EtOAc: Hexano) para proporcionar un sólido de color amarillo como producto tert- butil 5- metilpiridin- 3- ilcarbamato (8.5 g, 88% de rendimiento). LCMS (*m/z*) : 209.1 (MH^+) ; R_t LC = 1.94 min. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.20 (d, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

Síntesis de cis-(+/-)-tert-butil 5-metilpiperidin-3-ilcarbamato

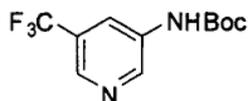
20 A una solución de 5- metilpiridin- 3- ilcarbamato (3g, 14mmol) en Ácido acético glacial (50 mL), se le adicionó Rodio sobre carbono activo al 5% (0.5 g) y óxido de platino (IV) (0.5g) en la bomba de acero de hidrogenación. La mezcla se selló e hidrogenó a 200 psi y 70 °C, durante 48 horas. La mezcla se filtró a través de Celite y se concentró para proporcionar el cis- (+/-)- tert- butil 5- metilpiperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (*m/z*) : 215.1 (MH^+) .

Síntesis de cis-(+/-)-tert-butil 5-metil-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato

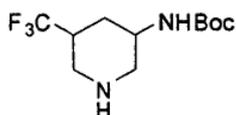
25 Se siguió el Método 1, utilizando cis- (+/-)- tert- butil 5- metilpiperidin- 3- ilcarbamato crudo, produciendo el cis- (+/-)- tert- butil 5- metil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (66 % de rendimiento). LCMS (*m/z*) : 337.1 (MH^+); R_t LC = 2.50 min. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.84 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 7.04 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.09 (d, 1H), 2.66 (q, 2H), 2.10 (d, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 0.93 (d, 3H) .

Síntesis de cis-(+/-)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)-5-metilpiperidin-3-ilcarbamato

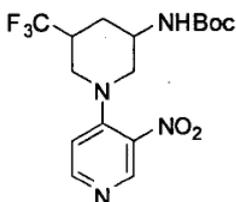
5 Se siguió el Método 2, utilizando el cis- (+/-)- tert- butil 5- metil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el cis- (+/-)- tert- butil 5- metil- 1- (3- aminopiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato (98 % de rendimiento) . LCMS (*m/z*) : 307.1 (MH⁺) ; R_t LC = 2.44 min. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.01 (s, 1H), 7.95 (d, 1H), 6.76 (d, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.70 (m, 3H), 3.58 (dq, 1H), 3.21 (dq, 1H), 2.15 (m, 3H), 1.90 (m, 1H), 1.58 (s, 9H), 0.97 (d, 3H).

Síntesis de tert-butil 5-(trifluorometil)piridin-3-ilcarbamato

10 A una solución de 5- trifluorometilpiridin- 3- amina (1 eq.) en THF (80 mL) a r.t., se le adicionó sodio bis (trimetilsililamida) 1M en THF (2 eq.), se agitó durante 15 min, seguido por di- tert- butildicarbonato (1eq.) en THF. La reacción se agitó a r.t., durante la noche y se concentró. El concentrado se trató con HCl 0.2M ac. y EtOAc, y la capa orgánica fue extraída, se lavó con NaHCO₃(sat.) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró. El concentrado se purificó utilizando cromatografía instantánea sobre sílica gel (40% de EtOAc: Hexano) para proporcionar un sólido de color amarillo como el producto tert- butil 5- (trifluorometil) piridin- 3- ilcarbamato (31% de rendimiento). LCMS (*m/z*) : 263.0 (MH⁺) ; R_t LC = 3.84 min. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.56 (m, 2H), 8.34 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 1.55 (s, 9H).

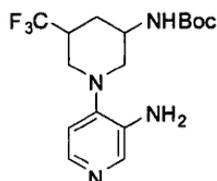
Síntesis de cis-(+/-)-tert-butil 5-(trifluorometil)piperidin-3-ilcarbamato

20 A una solución de tert- butil 5- (trifluorometil) piridin- 3- ilcarbamato (3g, 14mmol) en ácido acético glacial (50 mL), se le adicionó Rodio sobre carbono activo al 5% (0.5 g) y óxido de platino (IV) (0.5g) en la bomba de acero de hidrogenación. La mezcla se selló e hidrogenó a 200 psi y 70 °C, durante 48 h., la mezcla se filtró a través de Celite y se concentró para proporcionar el cis- (+/-)- tert- butil 5- (trifluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (*m/z*) : 269.1 (MH⁺).

Síntesis de cis-(+/-)-tert-butil 1-(3-nitropiridin-4-il)-5-(trifluorometil)piperidin-3-ilcarbamato

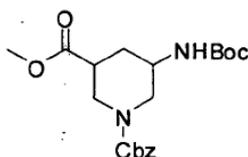
Se siguió el Método 1, utilizando el cis- (+/-)- tert- butil 5- (trifluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato crudo, produciendo el cis- (+/-)- tert- butil 1- (3- nitropiridin- 4- il)- 5- (trifluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato (42% de rendimiento durante dos etapas). LCMS (m/z) : 391.1 (MH^+) ; R_t LC = 2.92 min. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.93 (s, 1H), 8.47 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 4.50 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.45 (m, 1H), 3.00 (t, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.63 (m, 1H), 2.38 (d, 1H), 1.56 (s, 9H) .

5 Síntesis cis-(+/-)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)-5-(trifluorometil)piperidin-3-ilcarbamato



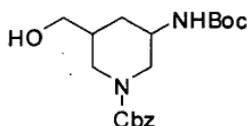
Se siguió el Método 2, utilizando el cis- (+/-)- tert- butil 1- (3- nitropiridin- 4- il)- 5- (trifluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el cis- (+/-)- tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- (trifluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (m/z) : 361.0 (MH^+) ; R_t LC = 2.72 min. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.05 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 6.79 (d, 1H), 4.46 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.72 (s, 2H), 3.62 (m, 1H), 3.49 (m, 1H), 2.59 (m, 2H), 2.36 (m, 1H), 2.23 (t, 1H), 1.58 (s, 9H) .

Síntesis de cis (+/-)-1-benzil 3-metil- 5-(tert-butoxicarbonilamino)piperidina-1,3-dicarboxilato



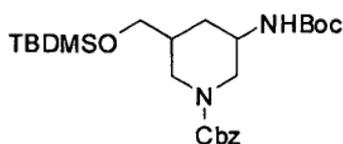
A una solución de ácido cis (+/-)- 1- (benziloxycarbonil)- 5- (tert- butoxycarbonilamino) piperidina- 3- carboxílico (1.0 eq), metanol (20 eq.) y EDC (1.3 eq) en diclorometano a una concentración de 0.25 M a 0°C, se le adicionó dimetilaminopiridina (0.1 eq). Después de agitar durante 48 horas como la reacción se dejó calentar a r.t., los volátiles se eliminan *in vacuo*. Con la adición de acetato de etilo y el lavado con H_2O (3x), HCl 1N, $NaHCO_3$ (sat.) y salmuera, la solución se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, se concentró y purificó por cromatografía de columna (25% de acetato de etilo/ hexanos), para producir el cis (+/-)- 1- benzil 3- metilo 5- (tert- butoxycarbonilamino)- piperidina- 1, 3- dicarboxilato. LCMS (m/z) : 293.1 ($MHBoc^+$) ; R_t LC = 4.09 min

20 Síntesis de cis (+/-)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-(hidroximetil)piperidina-1-carboxilato



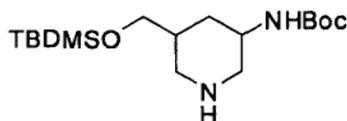
Una solución de cis (+/-)- 1- benzil 3- metil- 5- (tert- butoxycarbonilamino) piperidina- 1, 3- dicarboxilato (1.0 eq) en THF a una concentración de 0.08 M se enfrió a 0° C y luego se adicionaron LiCl (2.3 eq.) y borohidruro de sodio (2.3 eq.). Después de agitar durante 20 horas como la reacción se calentó a r.t., el pH se ajustó con ácido cítrico 1M a un pH 4- 5. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, el producto fue extraído en diclorometano, se lavó con H_2O y salmuera, se secó sobre $MgSO_4$. Después de la filtración y la eliminación de los volátiles *in vacuo*, se obtuvo el cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxycarbonilamino)- 5- (hidroximetil) piperidina- 1- carboxilato como una espuma y sólido de color blanco. LCMS (m/z) : 265.0 ($MH- Boc^+$) ; R_t LC = 3.37 min.

Síntesis de cis (+/-)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)piperidina-1-carboxilato



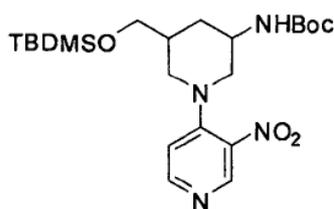
- 5 Una solución de cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- (hidroximetil) piperidina- 1- carboxilato (1.0 eq.), imidazol (1.1 eq.), tert- butildimetilsililcloruro (1.1 eq.) y dimetilaminopiridina (0.1 eq.) en diclorometano a una concentración de 0.1 M se agitó, durante 18 horas momento en el que los volátiles se eliminan in vacuo. La purificación directa del material crudo por cromatografía de columna (20% de acetato de etilo/ hexanos) produjo el cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)-5- ((tert- butildimetilsililoxi) metil) piperidina- 1- carboxilato. LCMS (m/z) : 379.0 (MH- Boc⁺) ; R_t LC = 5.95 min.

Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)piperidin-3-ilcarbamato



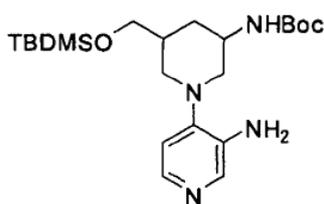
- 10 Se siguió el Método 2, para desproteger el cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxi- carbonilamino)- 5- ((tert- butildimetilsililoxi) metil) piperidina- 1- carboxilato produciendo el cis (+/-) - tert- butil 5- ((tert- butildimetilsililoxi) metil) piperidin-3-ilcarbamato. LCMS (m/z) : 344.1 (MH⁺) .

Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato



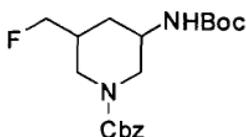
- 15 Se siguió el Método 1, utilizando el cis (+/-) - tert- butil 5- ((tert- butilo- dimetilsililoxi) metil) piperidin- 3- ilcarbamato y 4- cloro- 3- nitropiridina produciendo el cis (+/-) - tert- butil 5- ((tert- butildimetilsililoxi) metil)- 1- (3- nitropiridin-4- il)- piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (m/z) : 467.0 (MH⁺) ; R_t LC = 4.02 min.

Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)-5-((tert-butildimetilsililoxi)metil)piperidin-3-ilcarbamato



- 20 Siguiendo el Método 2, se redujo el cis (+/-)- tert- butil 5- ((tert- butildimetilsililoxi) metil)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin-3- ilcarbamato, produciendo el cis (+/-)- tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- ((tert- butildimetil- sililoxi) metil) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (m/z) : 437.2 (MR⁺) ; R_t LC = 3.86 min.

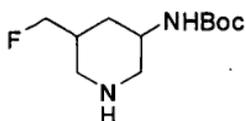
Síntesis de cis (+/-)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-5-(fluorometil)piperidina-1-carboxilato



- 25 Una solución de cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- (hidroximetil) piperidina- 1- carboxilato (1 eq.), perfluorobutanesulfonilfluoruro (2 eq.), trietilamina- HF (4 eq.) y trietilamina (6 eq.) en tetrahidrofurano a una concentración de 0.16 M se agitó, durante 36 horas. Bajo dilución con acetato de etilo (50x) la solución se lavó con

HCl 1N, NaHCO₃(sat.) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró y purificó por cromatografía de columna (25- 40% acetato de etilo/ hexanos), para producir el cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- (fluorometil) piperidina-1- carboxilato (45% de rendimiento). LCMS (*m/z*) : 267.1 (MH⁺); R_t LC = 4.23 min.

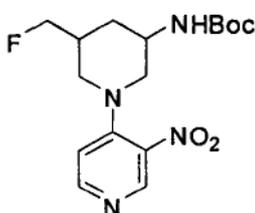
Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 5-(fluorometil)piperidin-3-ilcarbamato



5

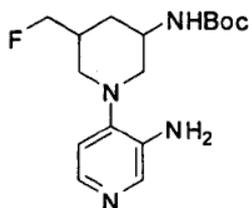
Se siguió el Método 2, para desproteger el cis (+/-)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 5- (fluorometil) piperidina-1- carboxilato produciendo el cis (+/-)- tert- butil 5- (fluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (*m/z*) : 233.1 (MH⁺) .

Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 5-(fluorometil)-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilcarbamato



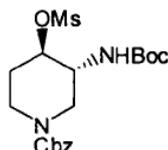
- 10 Se siguió el Método 1 del ejemplo 1, utilizando la cis (+/-)- tert- butil 5- (fluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato y 4- cloro- 3- nitropiridina produciendo el cis (+/-)- tert- butil 5- (fluorometil)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (*m/z*) : 355.1 (MH⁺) ; R_t LC = 2.41 min.

Síntesis de cis (+/-)-tert-butil 1-(3-aminopiridin-4-il)-5-(fluorometil)piperidin-3-ilcarbamato



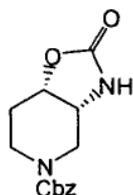
- 15 Siguiendo el Método 2, se redujo el cis (+/-)- tert- butil 5- (fluorometil)- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, produciendo el cis (+/-)- tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 5- (fluorometil) piperidin- 3- ilcarbamato. LCMS (*m/z*) : 325.1 (MH⁺) ; R_t LC = 2.27 min.

Síntesis de (3R, 4R)-benzil 3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(metilsulfonilo)piperidina-1-carboxilato

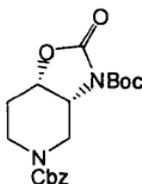


- 20 A una solución de (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato en diclorometano (0.13 M), se le adicionó trietilamina (1.5 equiv.) seguido por metanosulfonil cloruro (1.3 equiv.). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 15 h. A continuación, la solución se apagó con NaHCO₃ saturado, se extrajo con diclorometano, se secó con sulfato de sodio, y se concentró para proporcionar el (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)-4- (metilsulfonilo) piperidina- 1- carboxilato crudo con un rendimiento >95%. LCMS (*m/z*) : 428.9/328.9 (MH⁺), R_t = 3.81 min.

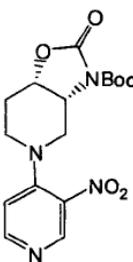
25

Síntesis de (3aR, 7aS)-benzil 2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-5(6H)-carboxilato

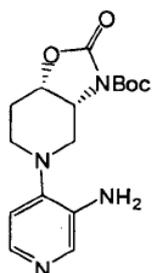
5 Una solución de (3R, 4R)- benzil 3- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (metilsulfoniloxi) piperidina- 1- carboxilato en piridina (0.16 M) se calentó a 120 °C en el microondas, durante 10 minutos. A continuación, la solución se concentró a casi sequedad y el sólido formado se filtró para proporcionar el producto deseado. El filtrado además se purificó vía cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo (100%), para producir el (3aR, 7aS)- benzil 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina-5 (6H)- carboxilato en 75% de rendimiento combinado. LCMS (m/z) : 277.1 (MH^+), R_t = 2.327 min.

Síntesis de (3aR, 7aS)-5-benzil 3-tert-butil 2-oxotetrahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3,5(2H,6H)-dicarboxilato

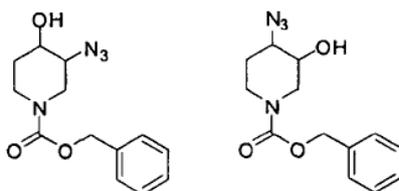
10 A una solución de (3aR, 7aS)- benzil 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 5 (6H)- carboxilato (1.0 equiv.) en diclorometano (0.09 M), se le adicionó BOC_2O (1.1 equiv.), trietilamina (1.1 equiv.), y una cantidad catalítica de DMAP. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante una hora, momento en el que se concentró con vacío y se filtró a través de un tapón de silica gel eluyendo con acetato de etilo. El producto se secó con vacío para producir el (3aR, 7aS)- 5- benzil 3- tert- butil 2- oxotetrahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3, 5 (2H, 6H)- dicarboxilato como un sólido de color blanco con un rendimiento del 75%. LCMS (m/z) : 277.2 (MH^+), R_t = 3.43 min.

Síntesis de (3aR,7aS)-tert-butil 5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3(2H)-carboxilato

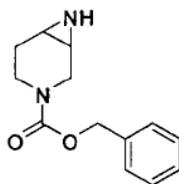
20 A una solución de (3aR, 7aS)- 5- benzil 3- tert- butil 2- oxotetrahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3, 5 (2H, 6H)- dicarboxilato en una mezcla de EtOH y EtOAc (1: 1, 0.07 M), se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó en un balón de hidrógeno, durante 15 h. A continuación, la solución se filtró a través de un lecho de Celite y el filtrado se concentró a sequedad para proporcionar un aceite claro. A una solución de (3aR, 7aS)- tert- butil 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato en *i*- PrOH (0.12 M), se le adicionó 4- cloro- 3- nitropiridina (1.2 equiv.) y DIEA (4.0 equiv.) La reacción se calentó a 75 °C, durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente y se concentró con vacío. La mezcla cruda se diluyó con EtOAc, se adicionó agua, la capa orgánica fue extraída, se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 , y se concentró. El crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con EtOAc (100%), para producir el (3aR, 7aS)- tert- butil 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato como una espuma de color amarillo con un rendimiento del 89 %). LCMS (m/z) : 365.1 (MH^+), R_t = 1.79 min.

Síntesis de (3aR, 7aS)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3(2H)-carboxilato

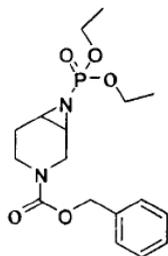
- 5 A una solución de (3aR, 7aS)- tert- butil 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato en EtOH y EtOAc (1: 1, 0.15 M), se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó en un balón de hidrógeno, durante 15 h. La solución se filtró a través de un lecho de Celite, y el filtrado se concentró para producir el (3aR, 7aS)- tert- butil 5- (3- aminopiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato como un aceite claro con un rendimiento >95%. LCMS (m/z) : 335.0 (MH^+), R_t = 1.68 min.

Síntesis de benzil 3-azido-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato y benzil 4-azido-3-hidroxipiperidina-1-carboxilato

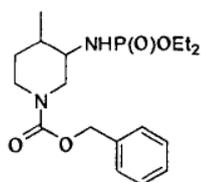
- 10 A una solución de benzil 7- oxa- 3- azabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato (1.0 equiv.) en MeOH y agua (0.17M), se le adicionó azida sódica (2.0 equiv.) y cloruro de amonio (1.0 equiv.). La reacción se agitó a 65°C en un baño de aceite, durante 7 h, luego se concentró para eliminar el metanol. Se adicionó acetato de etilo, la fase orgánica se separó, se secó con Na_2SO_4 , y se concentró con vacío para proporcionar el benzil 3- azido- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato y el benzil 4- azido- 3- hidroxipiperidina- 1- carboxilato como un aceite claro con un rendimiento >95%. LCMS (m/z) : 276.9 (MH^+), R_t = 2.98 min.
- 15 Síntesis de benzil 3,7-diazabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato



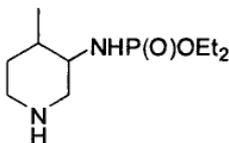
- 20 A una solución de benzil 3- azido- 4- hidroxipiperidina- 1- carboxilato y benzil 4- azido- 3- hidroxipiperidina-1- carboxilato (1.0 equiv.) en dioxano (0.14M), se le adicionó PPh_3 (2.0 equiv.) y se calentó la reacción a reflujo, durante 1 h. A continuación, la solución se concentró con vacío y se purificó por cromatografía de columna de sílica gel eluyendo con DCM, 10% de MeOH y 1% de Et_3N para proporcionar el benzil 3, 7- diazabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato como un aceite claro con un rendimiento del 25 %. LCMS (m/z) : 233.0 (MH^+), R_t = 1.94 min.

Síntesis de benzil 7-(dietoxifosforil)-3,7-diazabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato

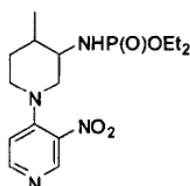
- 5 A una solución de benzil 3, 7- diazabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato (1.0 equiv.) en DCM (0.26 M), se le adicionó dietil cloro fosfato (1.3 equiv.) y trietil amina (1.5 equiv.). La reacción se agitó, durante 24 h, luego se concentró a sequedad. Se adicionaron agua y acetato de etilo, las capas orgánicas se extrajeron, se secaron con Na₂SO₄, y se concentraron. El crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (50% a 100% de acetato de etilo), para producir el benzil 7- (dietoxifosforil)- 3, 7- diazabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato como un aceite claro con un rendimiento del 21 %. LCMS (*m/z*) : 369.0 (MH⁺).

Síntesis de benzil 3-(dietoxifosforilamino)-4-metilpiperidina-1-carboxilato

- 10 A una suspensión de CuI (0.3 equiv.) en THF anhidro (0.1M), se le adicionó bromuro de metil magnesio (solución 3M en Et₂O, 10 equiv.) a - 40°C. La reacción se agitó, durante 30 min, seguido por la adición de benzil 7- (dietoxifosforil)- 3, 7- diazabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato (1.0 equiv.) en THF (0.1M) a - 40 °C. Permitiendo que la reacción se caliente a 10 °C, durante 5 h, luego se apagó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró con vacío y se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (50% a 100% de acetato de etilo), para producir el benzil 3- (dietoxifosforilamino)- 4- metilpiperidina- 1- carboxilato, con un rendimiento del 35 %. LCMS (*m/z*) : 385.0 (MH⁺), R_t = 3.38 min.

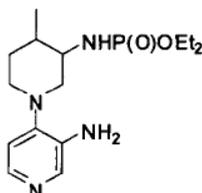
Síntesis de dietil 4-metilpiperidin-3-ilfosforamidato

- 20 A una solución del benzil 3- (dietoxifosforilamino)- 4- metilpiperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en MeOH desgasificado, se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó con una atmósfera de hidrógeno, durante 1 h. La solución se filtró, luego se concentró para producir el dietil 4- metilpiperidin- 3- ilfosforamidato con un rendimiento del 83 %. LCMS (*m/z*) : 251.1 (MH⁺).

Síntesis de dietil 4-metil-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilfosforamidato

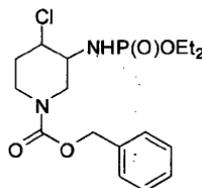
5 A una solución de dietil 4- metilpiperidin- 3- ilfosforamidato (1.0 equiv.) en alcohol isopropílico, se le adicionaron 4- cloro- 3- nitropiridina (2.0 equiv.) y DIEA (1.1 equiv.). La reacción se calentó a 70 °C, durante 18 h, luego se apagó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se secaron y concentraron con vacío. El crudo se purificó vía ISCO (acetato de etilo y hexanos), para producir el dietil 4- metil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilfosforamidato con un rendimiento del 52 %. LCMS (m/z) : 373.0 (MH⁺), R_t = 1.93 min.

Síntesis de dietil 1-(3-aminopiridin-4-il)-4-metilpiperidin-3-ilfosforamidato



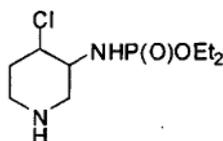
10 A una solución de dietil 4- metil- 1- (3- nitropiridin- 4- il) piperidin- 3- ilfosforamidato (1.0 equiv.) en EtOAc desgasificado (0.1M), se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó con una atmósfera de hidrógeno, durante 18 h. Se filtro y concentró el filtrado para producir el dietil 1- (3- aminopiridin- 4- il)- 4- metilpiperidin- 3- ilfosforamidato con un rendimiento del 86%. LCMS (m/z) : 343.0 (MH⁺), R_t = 1.85 min.

Síntesis de benzil 4-cloro-3-(dietoxifosforilamino)piperidina-1-carboxilato

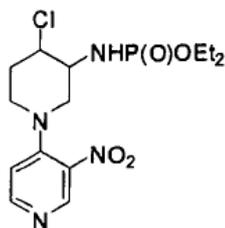


15 A una solución de benzil 7- (dietoxifosforil)- 3, 7- diazabicyclo [4.1.0] heptano- 3- carboxilato (1.0 equiv.) y trietil amina clorhidrato (4 equiv.) en DCM (0.1 M), se le adicionó BF₃.OEt₂ (2.0 equiv.) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 2 h bajo una atmósfera de nitrógeno. A continuación, la solución se apagó con agua y se extrajo con DCM. El producto crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel (ISCO eluyendo con EtOAc y Hexanos 50% a 100% EtOAc), para producir el benzil 4- cloro- 3- (dietoxifosforilamino) piperidina- 1- carboxilato con un rendimiento del 89%. LCMS (m/z) : 405.1 (MH⁺), R_t = 2.73 min.

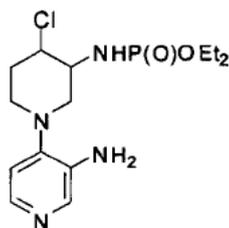
20 Síntesis de dietil 4-cloropiperidin-3-ilfosforamidato



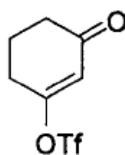
25 A una solución de benzil 4- cloro- 3- (dietoxifosforilamino) piperidina- 1- carboxilato (1.0 equiv.) en MeOH desgasificado, se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó con una atmósfera de hidrógeno, durante 1 h. La solución se filtró, luego se concentró para producir el dietil 4- cloropiperidin- 3- ilfosforamidato con un rendimiento del 92%. LCMS (m/z) : 271.0 (MH⁺).

Síntesis de dietil 4-cloro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilfosforamidato

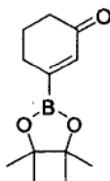
- 5 A una solución de dietil 4-cloropiperidin-3-ilfosforamidato (1.0 equiv.) en alcohol isopropílico (0.1M), se le adicionó 4-cloro-3-nitropiridina (2.0 equiv.) y DIEA (1.1 equiv.). La reacción se calentó a 70°C, durante 18 h, luego se apagó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se secaron y concentraron con vacío. El crudo se purificó vía ISCO (acetato de etilo y hexanos luego 10% metanol en DCM), para producir el dietil 4-cloro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilfosforamidato con un rendimiento del 69%. LCMS (m/z): 393.1 (MH^+), R_t = 2.01 min.

Síntesis de dietil 1-(3-aminopiridin-4-il)-4-cloropiperidin-3-ilfosforamidato

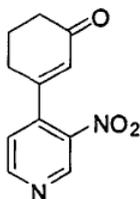
- 10 A una solución de dietil 4-cloro-1-(3-nitropiridin-4-il)piperidin-3-ilfosforamidato (1.0 equiv.) en EtOAc desgasificado (0.1M), se le adicionó Pd/C (10% en peso) y la reacción se agitó con una atmósfera de hidrógeno, durante 18 h. se filtro y concentró el filtrado, para producir el dietil 1-(3-aminopiridin-4-il)-4-cloropiperidin-3-ilfosforamidato con un rendimiento del 83%. LCMS (m/z): 363.1 (MH^+), R_t = 1.89 min.

Síntesis de 3-oxociclohex-1-enil trifluorometanosulfonato

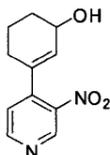
- 15
20 A una solución de ciclohexano-1,3-diona (1 equiv) en DCM (0.4M), se le adicionó Na_2CO_3 (1.0 equiv.) y se enfrió a 0°C. Se adicionó Tf_2O (1.0 equiv.) en DCM (5M) gota a gota, durante 1 hr a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de la adición, la reacción se agitó, durante 2 hr (solución de color rojo oscuro). La solución se filtró y al filtrado se le adicionó $NaHCO_3$ saturado (con cuidado), a continuación se extrajo las capas orgánicas, se secaron con salmuera, luego Na_2SO_4 , y se concentraron. El crudo se purificó vía cromatografía de columna SiO_2 eluyendo con DCM y hexanos (1:1) o alternativamente vía un tapón de alúmina neutra eluyendo con DCM, para proporcionar el 3-oxociclohex-1-enil trifluorometanosulfonato con un rendimiento del 30% o 67% respectivamente. El triflato se descompone en almacenamiento y debe ser utilizado inmediatamente para la siguiente reacción. LC/MS=244.9/286.0 ($M+H$ y $M+CH_3CN$); R_t = 0.88 min.

Síntesis de 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-2-enona

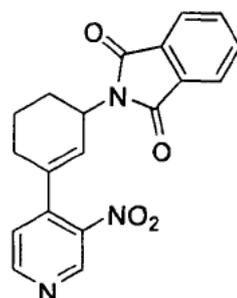
5 A una solución de 3-oxociclohex-1-enil trifluorometanosulfonato (1.0 equiv.) en dioxano desgasificado (0.3M), se le adicionó bis (pinacolato) diboro (2.0 equiv.), KOAc (3.0 equiv.), y Pd (dppf) Cl₂-DCM (0.05 equiv.). La reacción se calentó a 80°C, durante 2 h, luego se filtró. La solución de dioxano se utilizó para la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS = 140.9 (M+H de ácido borónico).

Síntesis de 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enona

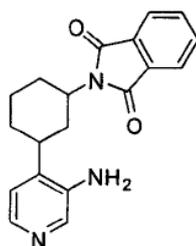
10 A una solución de 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-2-enona (1.0 equiv.) en dioxano desgasificado y Na₂CO₃ 2M, se le adicionaron 4-cloro-3-nitropiridina (1.2 equiv.) y Pd (PPh₃)₄ (0.05 equiv.). La reacción se calentó en un baño de aceite a 120°C, durante 30 min. (la reacción también se puede llevar a cabo en el microondas, durante 10 min a 120°C). Se enfrió a temperatura ambiente, luego se diluyó con EtOAc, se adicionó H₂O-solución oscura, gran cantidad de emulsiones. Se filtró para deshacerse de los sólidos, a continuación se extrajo la fase orgánica, se secó con Na₂SO₄, y se concentró. El crudo se purificó vía cromatografía de sílica gel para producir la 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enona (64%, 2 etapas). LC/MS = 219 (M+H), LC = 2.29 min.

15 Síntesis de 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol

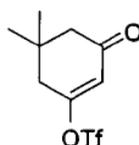
20 A una solución de 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enona (1.0 equiv.), se le adicionó EtOH (1.1 M) y CeCl₃·7H₂O (1.3 equiv.). La reacción se dejó enfriar a 0°C, luego se le adicionó en porciones NaBH₄ (1.3 equiv.). Se agitó durante 2 h a 0°C, luego se apagó mediante la adición de agua, se concentró para eliminar el EtOH, se adicionó EtOAc, se extraen las capas orgánicas, se secaron con salmuera, luego Na₂SO₄, y se concentraron para producir el 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol (99%) . LC/MS = 221.1 (M+H), LC = 2.24 min.

Síntesis de 2-(3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enil)isoindolina-1,3-diona

5 A una solución homogénea de 3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol (1.0 eq), trifenil fosfina (1.5 eq), y ftalimida (1.5 eq) en THF (0.2 M) enfriada a 0 °C, se le adicionó *tert*butil azodicarboxilato (1.5 eq) en THF. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 2 horas. La reacción se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por columna (5% metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1) para proporcionar un sólido, que además fue triturado con DCM y hexanos para producir un producto puro, más el filtrado. Una purificación adicional del filtrado produjo más producto puro. El rendimiento total de la 2-(3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enil)isoindolina-1,3-diona fue 58%. LC/MS (*m/z*): MH⁺=350.2, R_t=0.96. R_t HPLC =3.73.

10 Síntesis de 2-(3-(3-aminopiridin-4-il)ciclohexil)isoindolina-1,3-diona

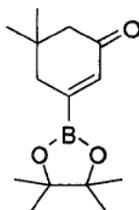
15 Una solución de 2-(3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enil)isoindolina-1,3-diona (1 eq) en Ácido Acético (0.1 M) se purgó con nitrógeno, durante 10 min. A continuación, se adicionó Pd/C al 10% (0.15 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante cuatro días bajo una atmósfera de hidrógeno. Los sólidos se eliminan por filtración sobre celite, luego se aclaró con EtOAc y MeOH. El filtrado se concentró, se diluyó con EtOAc y se lavó 2x con Na₂CO₃ 2M sat. ac.. La capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró, y concentró. Se trituró a partir de EtOAc/hexanos para proporcionar la 2-(3-(3-aminopiridin-4-il)ciclohexil)isoindolina-1,3-diona con un rendimiento del 77%. LC/MS (*m/z*): MH⁺=322.2, R_t=0.64. R_t HPLC =2.43 min.

Síntesis de 5,5-dimetil-3-oxociclohex-1-enil trifluorometanosulfonato

20
25 En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos, se disolvió la 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (1.0 eq) en DCM (0.2 M). Se adicionó carbonato de sodio (1.1 equiv.), y la mezcla se enfrió con agitación magnética en un baño de hielo/sal/ agua a ~- 5°C bajo N₂. Se adicionó anhídrido tríflico (1.05 equiv.) diluido en DCM por goteo vía un embudo de adición durante 90 minutos. Después de la terminación de la adición, la reacción se agitó a ~ 0°C, durante 1h. A partir de LCMS y ¹H NMR, todavía había material inicial saliendo. Además, se adicionaron carbonato de sodio (0.51 equiv.) y anhídrido tríflico (0.50 equiv.). Después de 2 horas, la mezcla se filtró a través de un embudo de frita de vidrio grueso (la tarta se lavó con DCM), se transfirió a un matraz Erlenmeyer, se apagó mediante la adición cuidadosa de bicarbonato de sodio saturado acuoso con agitación vigorosa hasta pH =7, se transfirió a un embudo de separación y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se

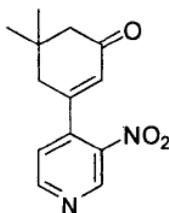
concentró para proporcionar el 5, 5- dimetil- 3- oxociclohex- 1- enil trifluorometanosulfonato, que se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (m/z) : MH^+ =273.1, R_t =1.03 min.

Síntesis de 5,5-dimetil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-2-enona



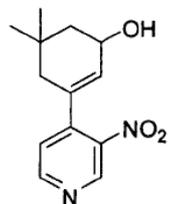
- 5 Se adicionaron todos los reactivos, el 5, 5- dimetil- 3- oxociclohex- 1- enil trifluorometanosulfonato (1.0 eq), acetato de potasio (3.0 eq), y bis (pinacolato) diboro (2.0 eq) a 1, 4- dioxano (0.2 M) en un matraz de fondo redondo y se desgasificó mediante el burbujeo de N_2 a través de la mezcla, durante 10 min. Se adicionó $PdCl_2$ (dppf)- aducto de DCM (0.03 eq), y la reacción se calentó a 80 °C adaptado con un condensador de reflujo en un baño de aceite bajo N_2 , durante la noche. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró a través de un embudo de fritada de vidrio grueso, la tarta se aclaró con 1, 4- dioxano para proporcionar la 5, 5- dimetil- 3- (4, 4, 5, 5-tetrametil- 1, 3, 2- dioxaborolan- 2- il) ciclohex- 2- enona en 1, 4- dioxano, que se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (m/z) : MH^+ (ácido borónico) =169.1, R_t =0.50 min.

Síntesis de 5,5-dimetil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enona

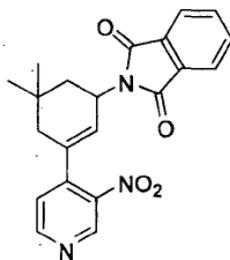


- 15 El éster boronato 5, 5- dimetil- 3- (4, 4, 5, 5- tetrametil- 1, 3, 2- dioxaborolan- 2- il) ciclohex- 2- enona (1.0 eq) se disolvió en 1, 4- dioxano en un matraz de fondo redondo se desgasificó mediante el burbujeo de N_2 a través de la solución, durante 30 minutos. Se adicionaron 4- cloro- 3- nitro- piridina (1.3 eq) y carbonato de sodio (ac) 2M (2.0 eq) y se burbujeó N_2 durante 10 minutos y luego se le adicionó $PdCl_2$ (dppf)- DCM (0.05 eq): La mezcla de reacción se agitó a 110 °C, durante 2 hr. Se adicionaron EtOAc y agua a la mezcla. La mezcla resultante se filtró a través de celite, la tarta se lavó con EtOAc. La capa orgánica se separó. La fase acuosa fue extraída con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de silica gel (se eluyen con EtOAc: Hexanos = 1: 10 a 2: 1) para proporcionar la 5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enona (46.7% para las tres etapas). LC/MS (m/z) : MH^+ =247.2, R_t =0.79 min.

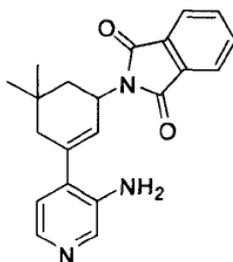
Síntesis de 5,5-dimetil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol



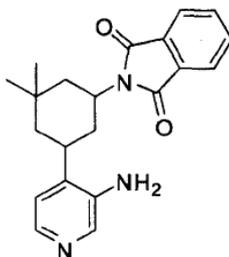
- 25 A una solución de 5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enona (1.0 eq), y $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ (1.2 eq) en MeOH (0.2 M), se le adicionó $NaBH_4$ (1.0 eq) a 0 °C. La solución se agitó, durante 1 hora, y luego se apagó con 5mL de agua. Los volátiles se eliminaron *in vacuo* y el residuo se sometió a partición entre EtOAc y H_2O . La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera. La fase acuosa combinada se extrajo de nuevo con EtOAc y la capa orgánica se lavó con salmuera. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y concentraron. El residuo se purificó por columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1) para proporcionar el 5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol (74%). LC/MS (m/z) : MH^+ =249.2, R_t =0.76 min.

Síntesis de 2-(5,5-dimetil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enil)isoindolina-1,3-diona

- 5 A una solución homogénea de 5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enil (1.0 eq), trifenil fosfina (1.5 eq), y ftalimida (1.5 eq) en THF (0.2 M) enfriada a 0 °C, se le adicionó ditterbutil azodicarboxilato (1.5 eq) en THF. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 2 horas. La reacción se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1) para proporcionar la 2- (5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enil) isoindolina- 1, 3- diona (99%). LC/MS (*m/z*) : MH^+ =378.2, R_t =1.10 min.

Síntesis de 2-(3-(3-aminopiridin-4-il)-5,5-dimetilciclohex-2-enil)isoindolina-1,3-diona

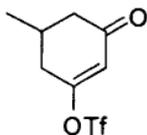
- 10 Una solución de 2- (5, 5- dimetil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enil) isoindolina- 1, 3- diona (1 eq) en Ácido Acético (0.1 M) se purgó con nitrógeno, durante 10 min. A continuación, se adicionó Pd/C al 10% (0.10 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche con una atmósfera de hidrógeno. Los sólidos se eliminan por filtración sobre celite, luego se aclaró con EtOAc y MeOH. El filtrado se concentró, se diluyó con EtOAc y se lavó 2x con Na_2CO_3 2M sat. ac.. La capa orgánica se secó con $MgSO_4$, se filtró, y concentró. El residuo se purificó por medio de columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1), para proporcionar la 2- (3- (3-aminopiridin- 4- il)- 5, 5- dimetilciclohex- 2- enil) isoindolina- 1, 3- diona (89%). LC/MS (*m/z*) : MH^+ =348.3, R_t =0.79 min.

Síntesis de 2-(5-(3-aminopiridin-4-il)-3,3-dimetilciclohexil)isoindolina-1,3-diona

- 20 Una solución de 2- (3- (3- aminopiridin- 4- il)- 5, 5- dimetilciclohex- 2- enil) isoindolina- 1, 3- diona (1.0 eq) en ácido acético (0.1 M) se purgó con nitrógeno, durante 10 min. A continuación, se adicionó Pd/C al 10% (0.1 eq). La mezcla de reacción se agitó a 45 °C, atmósfera de hidrógeno de 300 psi en una bomba de acero durante la noche y a 65 °C, 300 psi por 5 horas. Los sólidos se eliminan por filtración sobre celite, luego se aclaró con EtOAc y MeOH. El filtrado se concentró, se diluyó con EtOAc y se lavó 2x con Na_2CO_3 2M sat. ac.. La capa orgánica se secó con $MgSO_4$, se filtró, y concentró. El residuo se purificó por medio de columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1) para proporcionar la 2- (5- (3- aminopiridin- 4- il)- 3, 3-dimetilciclohexil) isoindolina- 1, 3- diona (53%). LC/MS (*m/z*) : MH^+ =350.3, R_t =0.78 min. La 2- ((1*R*, 5*R*)- 5- (3- aminopiridin- 4- il)- 3, 3- dimetilciclohexil) isoindolina- 1, 3- diona

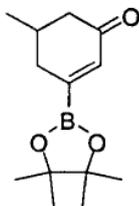
5 enantioméricamente pura y 2- ((1S, 5S)- 5- (3-aminopiridin- 4- il)- 3, 3- dimetilciclohexil) isoindolina- 1, 3- diona se resolvieron por HPLC quiral (Para análisis $R_t = 7.53$ min y 13.11 min respectivamente; hexanos: etanol= 80: 20 (v: v), Chiralcel OJ- H 100 x 4.6 mm a 1 mL/min. Para la separación preparativa, hexanos: etanol = 80: 20 (v: v), Chiralcel OJ- H 250 x 20 mm a 20 mL/min). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : δ 8.04 (s, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.82 (m, 2H), 7.71 (m, 2H), 7.06 (d, 1H), 4.54 (m, 1H), 3.71 (m, 2H), 2.89 (m, 1H), 2.23- 2.44 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 1.20- 1.60 (m, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.07 (s, 3H) .

Síntesis de 5-metil-3-oxociclohex-1-eniltrifluorometanosulfonato



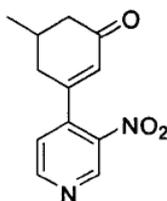
10 A una solución de 5- metilciclohexano- 1, 3- diona (1 equiv) en DCM (0.4M), se le adicionó Na_2CO_3 (1.0 equiv.) y se enfrió a 0°C . Se adicionaron Tf_2O (1.0 equiv.) en DCM (5M) gota a gota durante 1 hr a 0°C , bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de la adición, la reacción se agitó, durante 2 hr a temperatura ambiente (solución de color rojo oscuro). La solución se filtró y se adicionó NaHCO_3 saturado (con cuidado) al filtrado, a continuación se extrajeron las capas orgánicas, se secaron con salmuera, luego Na_2SO_4 , y se concentraron. El crudo se purificó vía cromatografía de columna de SiO_2 eluyendo con DCM y hexanos (1: 1) o alternativamente vía un tapón de alúmina neutra eluyendo con DCM para proporcionar el 5- metil- 3- oxociclohex- 1- enil trifluorometanosulfonato con un rendimiento del 30% o 67% respectivamente. El triflato se descompone en almacenamiento y debe ser utilizado inmediatamente para la siguiente reacción. LC/MS=259.1/300.1 (M+H y M+ CH_3CN); $R_t = 0.94$ min, LC = 3.84 min.

Síntesis de 5-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-2-enona

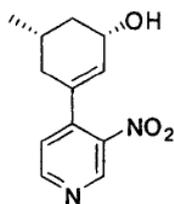


20 A una solución de 5- metil- 3- oxociclohex- 1- enil trifluorometanosulfonato (1.0 equiv.) en dioxano desgasificado (0.3M), se le adicionó bis (pinacolato) diboro (2.0 equiv.), KOAc (3.0 equiv.), y Pd (dppf) Cl_2 - DCM (0.05 equiv.). La reacción se calentó a 80°C , durante 10h, luego se filtró. La solución de dioxano se utilizó para la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS = 155.1 (M+H de ácido borónico); $R_t = 0.41$ min, LC = 1.37 min.

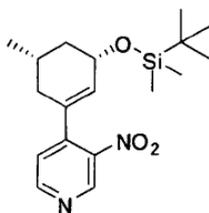
Síntesis de 5-metil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enona



25
30 A una solución de 5- metil- 3- (4, 4, 5, 5- tetrametil- 1, 3, 2- dioxaborolan- 2- il) ciclohex- 2- enona (1.0 equiv.) en dioxano desgasificado y Na_2CO_3 2M, se le adicionó 4- cloro- 3- nitropiridina (1.2 equiv.) y Pd (PPh_3) $_4$ (0.05 equiv.). La reacción se calentó en un baño de aceite a 120°C , durante 2 h. (la reacción también se puede llevar a cabo en el microondas, durante 10 min a 120°C). Se enfrió a temperatura ambiente, luego se diluyó con EtOAc, se adicionó solución oscura- H_2O , gran cantidad de emulsiones. Se filtró para deshacerse de los sólidos, a continuación se extrajo la fase orgánica, se secó con Na_2SO_4 , y se concentró. El crudo se purificó vía cromatografía de sílica gel para producir la 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enona. LC/MS = 233.2 (M+H); $R_t = 0.69$ min, LC = 2.70 min.

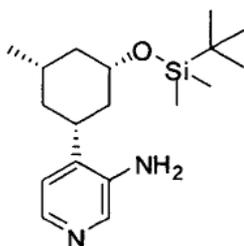
Síntesis de cis-(+/-)-5-metil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol

- 5 A una solución de 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enona (1.0 equiv.), se le adicionó EtOH (1.1 M) y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.3 equiv.). La reacción se dejó enfriar a 0°C , luego se le adicionó en porciones NaBH_4 (1.3 equiv.). Se agitó durante 2 h a 0°C , luego se apagó mediante la adición de agua, se concentró para eliminar el EtOH, se adicionó EtOAc, se extrajeron las capas orgánicas, se secaron con salmuera, luego Na_2SO_4 , y se concentraron para producir el 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol (91%). LC/MS = 235.2 (M+H), LC = 2.62 min.

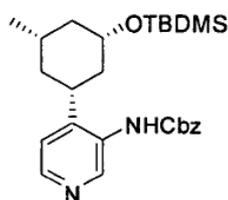
Síntesis de cis-(+/-)-4-(3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-metilciclohex-1-enil)-3-nitropiridina

- 10 A una solución de 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol (1.0 equiv.) en DMF (0.5 M), se le adicionaron imidazol (4.0 equiv.) y TBDSMC1 (2.5 equiv.). Después de agitar durante 18 horas la solución se sometió a repartición entre EtOAc y H_2O y se separó. Después de un lavado adicional con H_2O (3x) y NaCl (sat.), el secado sobre MgSO_4 , la filtración y la eliminación de solventes, se obtuvo el 4- (3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metilciclohex- 1- enil)- 3- nitropiridina (85%). LC/MS =349.2 (M+H), LC = 5.99 min.

- 15 Síntesis de cis-(+/-)-4-(3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-metilciclohexil)piridin-3-amina

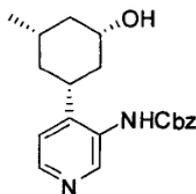


- 20 A una solución de cis- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metilciclohex- 1- enil)- 3- nitropiridina (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se adicionó paladio sobre carbón al 10% (0.1 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 15 horas. En este momento, la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, obteniéndose toda la cis- 4- (3- (tert- butildimetilsililoxi)-5- metilciclohexil) piridin- 3- amina (90%) . LCMS (*m/z*) : 321.3 (MH^+) ; R_t LC = 3.85 min.

Síntesis de cis(+/-) benzil 4-3-(tert-butildimetilsililoxi)-5-metilciclohexil)piridin-3-ilcarbamato

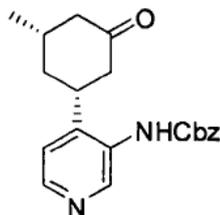
- 5 A una solución de cis- (+/-)- 4- (3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metilciclohexil) piridin- 3- amina en diclorometano a una concentración de 0.5M, se le adicionaron benzil 2, 5- dioxopirrolidin- 1- il carbonato (1.1 equiv.) y DMAP (0.05 equiv.). Después de agitar durante 16 horas a rt, se adicionaron además benzil 2, 5- dioxopirrolidin- 1- il carbonato (0.55 equiv.) y DMAP (0.03 equiv.). Después de agitar durante otras 24 horas a rt, además se adicionaron benzil 2, 5- dioxopirrolidin- 1-il carbonato (0.1 equiv.) y DMAP (0.03 equiv.). Después de agitar durante 18 horas más, la solución se sometió a partición entre EtOAc y $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{sat.})$ y se separó. Después de un lavado adicional con $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{sat.})$ (2x) y $\text{NaCl}(\text{sat.})$, el secado sobre MgSO_4 , la filtración y la eliminación de solventes, se obtuvo el cis (+/-) benzil 4- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato. El material crudo se utilizó tal como está. LC/MS = 455.3 (M+H), LC = 4.39 min.

10 Síntesis de cis-(+/-)benzil 4-(3-hidroxi-5-metilciclohexil)piridin-3-ilcarbamato



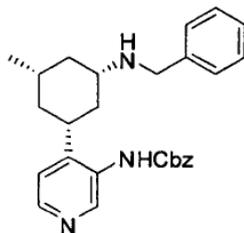
- 15 Una solución de cis (+/-) benzil 4- 3- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato en HCl 6N/THF/ MeOH 1: 2: 1, a una concentración de 0.1 M se agitó a rt, durante 6 horas. El pH fue ajustado a pH=7, por medio de la adición de NaOH 6N y los volátiles se eliminan *in vacuo*. La capa acuosa fue extraída con EtOAc y la capa orgánica se lavó con $\text{NaCl}(\text{sat.})$, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, se obtuvo el cis- (+/-) benzil 4- (3- hidroxi- 5- metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato. El material crudo se utilizó tal como está. LC/MS = 341.2 (M+H), LC = 2.38 min.

Síntesis de cis(+/-)-benzil 4-(3-metil-5-oxociclohexil)piridin-3-ilcarbamato



- 20 A una solución de 0°C de cis- (+/-)- benzil 4- (3- hidroxi- 5- metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato en CH_2Cl_2 húmedo a una concentración de 0.16 M, se adicionó Periodinano de Dess- Martin (1.5 equiv.) y la solución se agitó, durante 18 horas se calentó como tal a rt. La solución se sometió a partición entre EtOAc y 10% de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/ \text{NaHCO}_3(\text{sat.})$ 1: 1 y se separa. Después de un lavado adicional con 10% de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{NaHCO}_3(\text{sat.})$ 1: 1 (2x) y $\text{NaCl}(\text{sat.})$, el secado sobre MgSO_4 , la filtración, la eliminación de solventes y la purificación por cromatografía de sílica gel (75- 100% de EtOAc/ hexanos), se obtuvo el cis- (+/-)- benzil- 4- (3- metil-5- oxociclohexil) piridin- 3- ilcarbamato, como un sólido de color blanco (53%, 5 etapas). LC/MS = 339.2 (M+H).

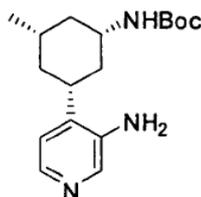
Síntesis de cis-(+/-)-benzil 4-(3-(benzilamino)-5-metilciclohexil)piridin-3-ilcarbamato



- 30 Una solución de cis- (+/-)- benzil- 4- (3- metil- 5- oxociclohexil) piridin- 3- ilcarbamato (1.0 equiv) y benzilamina (3.0 equiv) en MeOH, a una concentración de 0.25 M, se agitó a rt, durante 2 horas. Después del enfriamiento en un baño a - 78°C, se le adicionó LiBH_4 (1.1 equiv, 2.0 M en THF), y la solución se dejó calentar a rt con agitación,

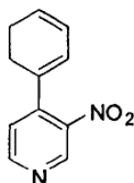
durante 16 horas. La solución se sometió a partición entre EtOAc y $\text{NaHCO}_3(\text{sat.})$, se separó, se lavó además con $\text{NaHCO}_3(\text{sat.})$ y $\text{NaCl}(\text{sat.})$, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y después de la eliminación de volátiles *in vacuo*, se obtuvo el *cis*- (+/-)- benzil 4- (- 3- (benzilamino)- 5-metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato como un mezcla 4: 1 de isómeros, con todos los *cis* como forma predominante LC/MS = 430.3 (M+H), LC = 0.62 min.

5 Síntesis de *cis*(+/-)-tert-butil (-3-(3-aminopiridin-4-il)-5-metilciclohexil)carbamato



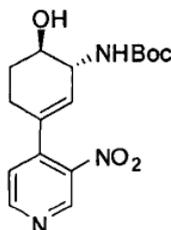
10 A una solución de *cis*- (+/-)- benzil 4- (- 3- (benzilamino)- 5- metilciclohexil) piridin- 3- ilcarbamato (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.07 M, se le adicionó hidróxido de paladio sobre carbono al 20% (0.2 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 14 horas. En este momento la reacción se purgó con Ar, se le adicionó Boc_2O (1.0 equiv.) y la solución se agitó, durante 8 horas. Se adicionó más Boc_2O (1.0 equiv.) y la solución se agitó, durante 16 horas más. En este momento la mezcla se filtró a través de un lecho de celite, eluyendo con metanol. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, la purificación por cromatografía de silica gel (2.5- 2.5 Me-OH/ CH_2Cl_2 con 0.1% de DIEA) y la recristalización a partir de 10% de EtOAc/ hexanos se produjo el *cis* (+/-)- tert- butil (- 3- (3- aminopiridin-4- il)- 5- metilciclohexil)carbamato (49%). LCMS (*m/z*) : 306.3 (MH^+), R_t LC = 2.59 min. Los enantiómeros puros se podrían obtener por medio de cromatografía quiral.

15 Síntesis de 4-(ciclohexa-1,3-dienil)-3-nitropiridina



20 A una solución de 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol (1.0 equiv.), se le adicionó dioxano (0.18M) y *p*- TSA (1.1 equiv.). La solución se calentó a 100 °C, durante 4 h. Se enfrió a temperatura ambiente, se trató con NaHCO_3 sat. y acetato de etilo, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró. El crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con 100% de DCM para proporcionar la 4- (ciclohexa- 1, 3- dienil)- 3- nitropiridina como un aceite de color amarillo (27% de rendimiento). LCMS (*m/z*): 203.1 (MH^+), R_t LC = 3.53 min, H- NMR (CDCl_3): 9.02 (s, 1H), 8.70 (d, J=5.3, 1H), 7.30 (d, J=5.3, 1H), 6.15- 6.17 (m, 1H), 6.02- 6.11 (m, 2H), 2.35- 2.38 (m, 4H).

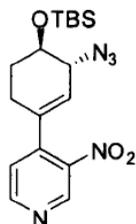
25 Síntesis de tert-butil 6-hidroxi-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enilcarbamato



30 A una solución de 2- azido- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enol (1.0 equiv.) en Piridina y NH_4OH (8: 1, 0.23 M), se le adicionó trimetilfosfina (3.0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente, durante 3 horas. Los solventes se eliminaron. Al residuo se le adicionó etanol. A continuación se retiró el etanol *in vacuo*, para asegurar la completa eliminación del amoníaco. El residuo se disolvió en 1, 4- Dioxano y bicarbonato de sodio sat. ac., y luego se adicionó a la mezcla Boc_2O (1.0 eq) en THF. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente, durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, y se lavó con NaCl sat. La capa

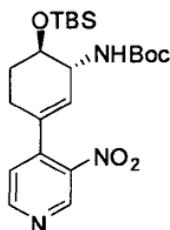
orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y concentró. El residuo se purificó por medio de columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1: 1), para proporcionar el tert- butil 6- hidroxil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (82%). LC/MS (m/z) : MH^+ =336.0, R_t =0.71

Síntesis de (+/-)-4-(3-azido-4-(tert-butildimetilsililoxi)ciclohex-1-enil)-3-nitropiridina



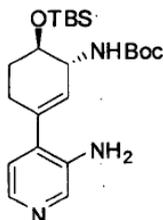
5 A una solución de (+/-)- 2- azido- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enol (1.0 equiv.) en DCM (0.15M), se le adicionó TBSCl (2.0 equiv.), imidazol (2.0 equiv.) y DMAP (0.1 equiv.) a temperatura ambiente. Después de 18 h, se adicionó agua, las capas orgánicas se secaron con salmuera, luego Na_2SO_4 , y se concentraron. El material crudo se cargó sobre silica gel y se purificó vía ISCO eluyendo con acetato de etilo y hexanos (20%). Se obtuvo la (+/-)- 4- (3- azido- 4- (tert- butildimetilsililoxi) ciclohex- 1- enil)- 3- nitropiridina, como un aceite de color amarillo con un rendimiento del 60%. LCMS (m/z) : 376.3 (MH^+), R_t LC =5.848 min.

Síntesis de (+/-)-tert-butil 6-(tert-butildimetilsililoxi)-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enilcarbamato



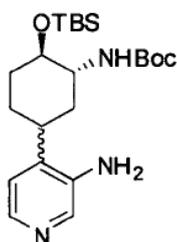
15 En un matraz de fondo redondo se adicionó la (+/-)- 4- (3- azido- 4- (tert- butildimetilsililoxi) ciclohex- 1- enil)- 3- nitropiridina (1.0 equiv.) y piridina (0.1M) para proporcionar una solución de color amarillo. Se le adicionó hidróxido de amonio (piridina:hidróxido de amonio10:1), seguido por PMe_3 (3.0 equiv.). La reacción se volvió marrón oscura después de 10 min. Se agitó a temperatura ambiente, durante 1.5 h. Se apagó mediante la adición de EtOH, y se concentró. Se repitió 2 veces más. Al crudo se le adicionó NaHCO_3 sat. y dioxano (1: 1, 0.1M). Se adicionó Boc_2O (1.0 equiv.). Se agitó durante una hora a temperatura ambiente. Se lavó con H_2O y EtOAc, la fase orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y concentró. El residuo se purificó vía ISCO (5: 1 Hex/ EtOAc). Se recolectaron las fracciones puras y se concentraron para proporcionar el (+/-)- tert- butil 6- (tert- butildimetilsililoxi)-3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato como una espuma. LCMS (m/z) : 450.3 (MH^+), R_t LC = 5.83 min.

Síntesis de (+/-)-tert-butil 3-aminopiridin-4-il)-6-(tert-butildimetilsililoxi)ciclohex-2-enilcarbamato



25 A una solución de (+/-)- tert- butil 6- (tert- butildimetilsililoxi)- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (1.0 equiv.) en AcOH (0.18 M), se le adicionó Fe (6.0 equiv.) y la reacción se agitó, durante 20 h. Se trató, mediante la dilución de la reacción con metanol, la filtración, y concentración del filtrado. Al crudo se le adicionó acetato de etilo y NaHCO_3 saturado, las capas orgánicas se secaron con sulfato de sodio y se concentraron para proporcionar el (+/-)- tert- butil 3- (3- aminopiridin-4- il)- 6- (tert- butildimetilsililoxi) ciclohex- 2- enilcarbamato como un aceite de color amarillo con un rendimiento del 94%. LCMS (m/z) : 420.3 (MH^+), R_t LC = 3.88 min.

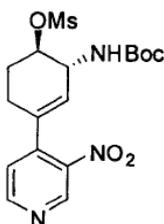
30

Síntesis de (+/-)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-2-(tert-butildimetilsililo)ciclohexilcarbamato

5 A una solución de (+/-) tert- butil 3- (3- aminopiridin- 4- il)- 6- (tert- butildimetilsililo) ciclohex- 2- enilcarbamato (1.0 equiv.) en MeOH (0.1M), se le adicionó Pd/C (20% en peso) y la reacción se agitó en un balón de hidrógeno, durante 18 h. El LC/MS de la reacción indicó una mezcla de diastereómeros, la reacción se filtró, se lavó con EtOAc y se concentró el filtrado. El material crudo se purificó vía HPLC preparativa (en DMSO), y las fracciones puras se combinaron, neutralizaron con NaHCO₃ sólido, se extrajeron con acetato de etilo, se lavaron con salmuera, se secaron mediante Na₂SO₄, y se concentraron para proporcionar el producto A (8% de rendimiento) y producto B (51% de rendimiento) .

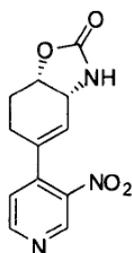
10 Product A: LCMS (*m/z*) : 422.4 (MH⁺), R_t LC = 3.75 min.

Product B: LCMS (*m/z*) : 422.4 (MH⁺), R_t LC =3.94 min.

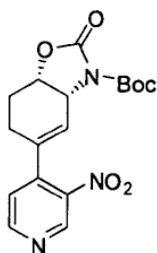
Síntesis de 2-(tert-butoxicarbonilamino)-4-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-3-enil metanosulfonato

15 A una solución de tert- butil 6- hidroxil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (1.0 equiv.) y trietil amina (1.5 equiv.) en CH₂Cl₂ (0.2 M), se le adicionó metanosulfonyl cloruro (1.2 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó, durante 2 horas a esta temperatura. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, y se lavó con NaCl sat. La capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y concentró para proporcionar el 2- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (3- nitropiridin-4- il) ciclohex- 3- enil metanosulfonato (85%), que se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (*m/z*) : MH⁺=414.0, R_t=0.82

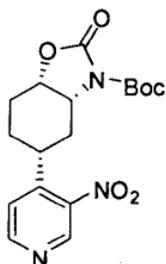
20 Síntesis de (+/-)-5-(3-nitropiridin-4-il)-3,3a,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-2(6H)-ona



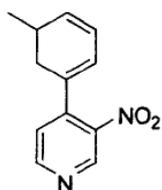
25 La mezcla de 2- (tert- butoxicarbonilamino)- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enil metanosulfonato (1.0 equiv.) en piridina (0.21 M) se agitó a 110 °C, durante 10 min en microondas. Se retiró la piridina bajo presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con NaCl sat. La capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y concentró para proporcionar la 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 3, 3a, 7, 7a- tetrahidrobenzo [d] oxazol- 2 (6H)-ona (85%), que se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (*m/z*) : MH⁺=262.1, R_t=0.49

Síntesis de (+/-)-tert-butil 5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxo-3a,6,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato

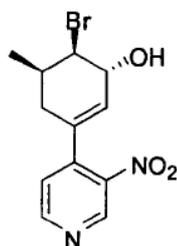
- 5 A una solución de 5-(3-nitropiridin-4-il)-3,3a,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-2(6H)-ona (1.0 equiv.), TEA (1.8 equiv.), y cantidad catalítica de DMAP en CH_2Cl_2 (0.19 M), se le adicionó di-tert-butil dicarbonato (1.2 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó, durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (100 mL), y se lavó con NaCl sat (30 mL). La capa orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y concentró. El residuo se purificó por medio de columna (5% de metanol en acetato de etilo y hexanos 1:1), para proporcionar el tert-butil 5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxo-3a,6,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato (98%). LC/MS (m/z): $\text{MH}^+=306.0$, $R_t=0.75$

10 Síntesis de (+/-)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-2-oxohexahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato

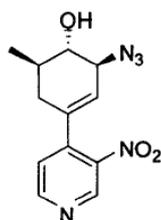
- 15 A una solución de tert-butil 5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxo-3a,6,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato (1.0 equiv.) en metanol y acetato de etilo (1; 1, 0.1 M), se le adicionó Pd/C (10%). La mezcla resultante se agitó bajo una atmósfera de H_2 , durante 6 horas. El sólido se retiró por filtración. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar el tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-2-oxohexahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato (87%), el cual se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional. LC/MS (m/z): $\text{MH}^+=334.1$, $R_t=0.51$.

Síntesis de (+/-)-4-(5-metilciclohexa-1,3-dienil)-3-nitropiridina

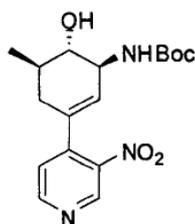
- 20 A una solución de 5-metil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol (1.0 equiv.) en dioxano (0.1M), se le adicionó p-TSA (1.0 equiv.), y la reacción se agitó a 100 °C, durante 3 h. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente, luego se pasó a través de un lecho de alúmina neutra eluyendo con EtOAc para producir la (+/-)-4-(5-metilciclohexa-1,3-dienil)-3-nitropiridina como un aceite de color amarillo con un rendimiento del 68%. LC/MS = 217.1 (M+H), LC = 3.908 min.

Síntesis de (+/-)-6-bromo-5-metil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enol

- 5 A una solución de 4- (5- metilciclohexa- 1, 3- dienil)- 3- nitropiridina (1.0 equiv.) en THF y agua (1: 1, 0.13M), se le adicionó NBS (1.5 equiv.) y la reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 30 min. Después de la terminación, se adicionaron acetato de etilo y agua a la reacción, la fase orgánica se secó con salmuera, luego sulfato de sodio, se filtró, y concentró. El material crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (1: 1) para proporcionar el (+/-)- 6- bromo- 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol como un aceite de color amarillo con un rendimiento del 80%. LC/MS = 315.0/313.0 (M+H), LC = 2.966 min.

Síntesis de (+/-)-2-azido-6-metil-4-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-3-enol

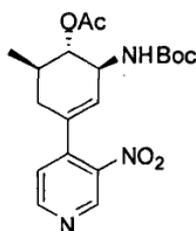
- 10 A una solución de (+/-)- 6- bromo- 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enol (1.0 equiv.) en THF (0.1M), se le adicionó potasio tert-butóxido (1.5 equiv.). La reacción se volvió de color naranja a negro casi inmediatamente. Por medio de la TLC, la formación de producto se hace nítida en 30 min. Se apagó mediante la adición de cloruro de amonio saturado y acetato de etilo. La fase orgánica se secó con salmuera, luego sulfato de sodio, se filtró, y concentró. El producto crudo se disolvió en etanol y se adicionaron agua (3:1, 0.1M), y cloruro de amonio (2.0 equiv)
- 15 y azida sódica (2.0 equiv.). La reacción de color naranja oscuro se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La conversión al producto se hace nítida como se indicó por LC/MS. La reacción se concentró para eliminar el etanol, se adicionaron acetato de etilo y agua, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y concentró. El material crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (1: 1) para proporcionar el (+/-)- 2- azido- 6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex-3- enol con un rendimiento del 55%. LC/MS = 276.0 (M+H), LC = 2.803 min.
- 20

Síntesis de (+/-)-tert-butil 6-hidroxi-5-metil-3-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-2-enilcarbamato

- 25 A una solución del (+/-)- 2- azido- 6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enol (1.0 equiv.) en piridina e hidróxido de amonio (8: 1, 0.08 M), se le adicionó trimetilfosfina (3.0 equiv.) y la solución de color marrón se agitó a temperatura ambiente, durante 2 h. Después de la terminación, se adicionó EtOH y la solución se concentró *in vacuo*. Se adicionó más etanol y la reacción se concentró de nuevo. Se adicionaron dioxano y NaHCO₃ sat. (1: 1, 0.08M) al crudo, seguido por Boc₂O (1.0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, durante 2h, luego se adicionó agua y acetato de etilo. La fase orgánica se secó con MgSO₄, y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (1:1) para proporcionar

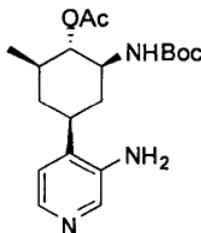
el (+/-)- tert- butil 6- hidroxil- 5- metil-3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (59%). LC/MS = 350.1 (M+H), R_t: 0.76 min.

Síntesis de (+/-)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-6-metil-4-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-3-enil acetato



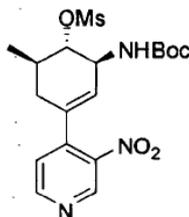
- 5 A una solución de (+/-)- tert- butil 6- hidroxil- 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (1.0 equiv.) en piridina (0.1M), se le adicionó Ac₂O (2.0 equiv.) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la terminación, la reacción se concentró a sequedad, luego se trató con acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó con salmuera, luego sulfato de sodio, se filtró, y concentró para proporcionar el (+/-)- 2- (tert-butoxicarbonilamino)-6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enil acetato con un rendimiento del 94%. LC/MS = 392.2 (M+H), R_t = 0.94 min.
- 10

Síntesis de (+/-)-4-(3-aminopiridin-4-il)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-6-metilciclohexil acetato



- 15 A una solución desgasificada de (+/-)- 2- (tert- butoxycarbonilamino)- 6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex-3- enil acetato (1.0 equiv.) en MeOH y EtOAc (1: 1, 0.1M), se le adicionó Pd/C (0.1 equiv.) y la reacción se agitó a temperatura ambiente en un balón de hidrógeno, durante 3 días. Después de la terminación, la solución se filtró a través de un lecho de Celite, el lecho se lavó con acetato de etilo y el filtrado se concentró. El material crudo contenía aproximadamente 10% del isómero no deseado. El crudo se disolvió en acetato de etilo (~20%) y hexanos y se calentó hasta que todo esté disuelto. La solución se dejó decantar a temperatura ambiente, durante 2 días. A continuación, el precipitado se recolectó para proporcionar el (+/-) - 4- (3- aminopiridin- 4- il)- 2- (tert-butoxicarbonilamino)- 6- metilciclohexil acetato como el producto puro con un rendimiento del 59%. LC/MS = 364.3 (M+H), R_t = 0.63 min.
- 20

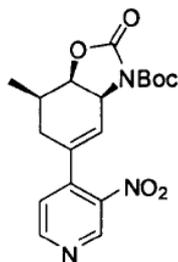
Síntesis de 2-(tert-butoxicarbonilamino)-6-metil-4-(3-nitropiridin-4-il)ciclohex-3-enil metanosulfonato



- 25 A una solución de tert- butil 6- hidroxil- 5- metil- 3- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 2- enilcarbamato (1.0 equiv.) en DCM (0.09 M), se le adicionó trietilamina (1.5 equiv.) y la reacción se dejó enfriar a 0 °C. Se adicionó MsCl (1.2 equiv.), a la reacción y se agitó durante 3 h. Se adicionó otro 1.0 equiv. de MsCl a la reacción y se agitó durante otras 2 h. El tratamiento de la reacción mediante la adición de agua, la fase orgánica se secó con salmuera, sulfato de sodio, y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de columna de sílica gel eluyendo con acetato de etilo y hexanos (1: 1) para proporcionar el 2- (tert- butoxycarbonilamino)- 6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il)

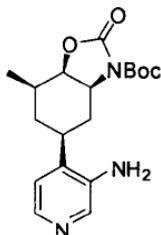
ciclohex- 3- enil metanosulfonato como una espuma de color blanco con un rendimiento del 65%. LC/MS = 428.2 (M+H), LC: 3.542 min.

Síntesis de (+/-)-tert-butil 7-metil-5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxo-3a,6,7,7a-tetrahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato



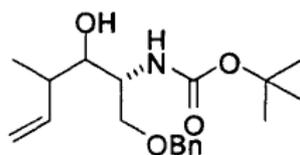
- 5 Una solución de (+/-)- 2- (tert- butoxicarbonilamino)- 6- metil- 4- (3- nitropiridin- 4- il) ciclohex- 3- enil metanosulfonato (1.0 equiv.) en piridina (0.2M) se calentó en el microondas a 110 °C, durante 10 min. A continuación, la reacción de color naranja se concentró con vacío, el crudo se disolvió en acetato de etilo y agua, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró con vacío. El material crudo se disolvió en DCM (0.2M), se adicionó trietilamina (1.8 equiv.), seguido por Boc₂O (1.2 equiv.). La reacción se agitó, durante 40 min, luego se concentró a sequedad.
- 10 El material crudo se purificó por cromatografía de columna de silica gel eluyendo con hexano y acetato de etilo (1:1) para proporcionar el (+/-)- tert- butil 7- metil- 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxo- 3a, 6, 7, 7a- tetrahidrobenzo [d] oxazol- 3 (2H)- carboxilato como una espuma de color blanco con un rendimiento del 66%. LC/MS = 376.0 (M+H), LC: 3.424 min.

Síntesis de (+/-)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-7-metil-2-oxohexahidrobenzo[d]oxazol-3(2H)-carboxilato

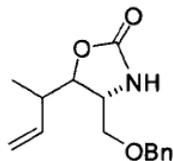


- 15 A una solución desgasificada de (+/-)- tert- butil 7- metil- 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxo- 3a, 6, 7, 7a- tetrahidrobenzo [d] oxazol- 3 (2H)- carboxilato (1.0 equiv.) en MeOH y EtOAc (1:1, 0.1M), se le adicionó Pd/C (0.1 equiv.). La reacción se agitó en un balón de hidrógeno durante la noche. Después de la terminación, la solución se filtró a través de un lecho de Celite y el lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró con vacío para proporcionar el (+/-)- tert- butil 5- (3- aminopiridin- 4- il)- 7- metil- 2- oxohexahidrobenzo [d] oxazol- 3 (2H)- carboxilato como el producto deseado como una espuma de color amarillo con un rendimiento del 93%. LC/MS = 348.1 (M+H), R_t = 055 min.
- 20

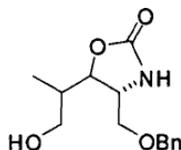
Síntesis de tert-butil (2R)-1-(benziloxi)-3-hidroxi-4-metilhex-5-en-2-ilcarbamato



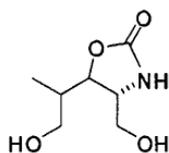
- 25 A una solución de N- Boc, O- benzil- D- Serina aldehído (1.0 equiv) en DCM (0.1 M) a - 78°C bajo una atmósfera de Ar, se le adicionó el (Z)- 2- (but- 2- enil)- 4, 4, 5, 5- tetrametil- 1, 3, 2- dioxaborolano (1.1 equiv) y la solución clara se agitó durante 16 horas se calentó como tal a rt. La solución se adicionó a EtOAc y se lavó con H₂O (3x), y NaCl_(sat.), se secó sobre MgSO₄ y se purificó por cromatografía de silica gel (15% de EtOAc/ hexanos), para producir el tert- butil (2R)-1- (benziloxi)- 3- hidroxi- 4- metilhex- 5- en- 2- ilcarbamato (54%) como una mezcla 3:1 de isómeros como se discrimina por ¹H NMR. LCMS (m/z) : 236.3 (MH+ Boc) ; R_t LC = 4.37 y 4.51 min.
- 30

Síntesis de (4R)-4-(benziloximetil)-5-(but-3-en-2-il)oxazolidin-2-ona

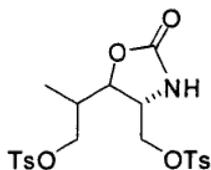
- 5 A una solución de (2R)- 1- (benziloxi)- 3- hidroxil- 4- metilhex- 5- en- 2- en THF (0.1 M), se le adicionó 60% de hidruro de sodio en aceite mineral (1.5 equiv.). Después de agitar durante 3 días, la reacción se apagó mediante la adición de $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{sat.})}$ y la solución se diluyó con EtOAc y se lavó con $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{sat.})}$ y $\text{NaCl}_{(\text{sat.})}$, se secó sobre MgSO_4 y se purificó por cromatografía de silica gel (50% de EtOAc/hexanos), para producir la (4R)- 4- (benziloximetil)- 5- (but- 3- en- 2- il) oxazolidin- 2-ona (89%) como una mezcla 3: 1. LCMS (m/z): 262.2 (MH^+); R_t LC = 3.47 min.

Síntesis de (4R)-4-(benziloximetil)-5-(1-hidroxipropan-2-il)oxazolidin-2-ona

- 10 A una solución de (4R)- 4- (benziloximetil)- 5- (but- 3- en- 2- il) oxazolidin- 2-ona (1.0 equiv.) en MeOH/ H_2O 2: 1 (0.04 M), se le adicionó tetróxido de osmio 4% en H_2O (0.07 equiv) y peryodato de sodio (3.0 equiv.). Después de agitar durante 3 horas, el precipitado de color blanco se filtró y se aclaró con EtOAc. El filtrado combinado se concentró *in vacuo* y el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con $\text{NaCl}_{(\text{sat.})}$, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y concentró. El aldehído crudo se disolvió en EtOH (0.08 M) y con enfriamiento a 0°C , se le adicionó borohidruro de sodio (2.0 equiv.). Después de agitar durante 15 horas y de que llegue a la temperatura ambiente, la reacción se apagó, mediante la adición de H_2O . Después de agitar durante 20 minutos, se retiró el EtOH *in vacuo*, se adicionó EtOAc y la solución se lavó con HCl 1N, $\text{NaHCO}_3_{(\text{sat.})}$ y $\text{NaCl}_{(\text{sat.})}$, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y concentró produciendo después de la purificación por cromatografía de silica gel la (4R)-4- (benziloximetil)- 5- (1- hidroxipropan- 2- il) oxazolidin- 2-ona como una mezcla 3: 1 de isómeros (60%). LCMS (m/z): 266.1 (MH^+); R_t LC = 2.28 min.

Síntesis de (4R)-4-(hidroximetil)-5-(1-hidroxipropan-2-il)oxazolidin-2-ona

- 25 A una solución de (4R)- 4- (benziloximetil)- 5- (1- hidroxipropan- 2- il) oxazolidin- 2-ona (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó paladio sobre carbón al 10% (0.1 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 15 horas. En este momento, la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo la (4R)- 4- (hidroximetil)-5- (1- hidroxipropan- 2- il) oxazolidin- 2-ona (99%). LCMS (m/z): 176.1 (MH^+).

Síntesis de 2-((4R)-2-oxo-4-(tosiloximetil)oxazolidin-5-il)propilo 4-metilbencenosulfonato

- 30 A una solución de la (4R)- 4- (hidroximetil)- 5- (1- hidroxipropan- 2- il) oxazolidin- 2-ona (1.0 equiv.) en piridina (0.15 M) a 0°C , se le adicionó p- toluenosulfonilcloruro (2.1 equiv.). La solución se dejó calentar a rt, ya que se agitó

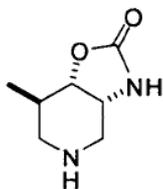
durante 14 horas, momento en el que se adicionó EtOAc y la solución se lavó con H₂O (3x), CuSO_{4(sat.)} (2x), H₂O, Na₂CO_{3(sat.)} y NaCl_(sat.), se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró y purificó por cromatografía de silica gel (eluyente 75% de EtOAc/hexanos), produciendo el 2- ((4R)- 2- oxo- 4- (tosiloximetil) oxazolidin- 5- il) propilo 4- metilbencenosulfonato (68%) . LCMS (*m/z*) : 484.1 (MH⁺) ; R_t LC = 4.06 min.

5 Síntesis de (3aR, 7R, 7aS)-5-(4-metoxibenzil)-7-metilhexahidrooxazolo[4,5-c]piridin-2(3H)-ona y (3aR, 7S, 7aR)-5-(4-metoxibenzil)-7-metilhexahidrooxazolo[4,5-c]piridin-2(3H)-ona



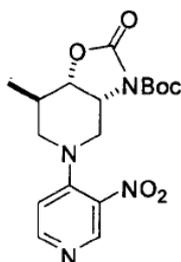
10 Una solución de 2- ((4R)- 2- oxo- 4- (tosiloximetil) oxazolidin- 5- il) propilo 4- metilbencenosulfonato (1.0 equiv.), diisopropiletil amina (3.0 equiv.) y para- metoxibenzilamina (1.5 equiv.) en NMP (0.05 M) se calentó a 100°C, durante 14 horas. La solución se purificó directamente por HPLC RP. Las fracciones del producto se desalaron, mediante adición a EtOAc y Na₂CO_{3(s)}, se lavaron adicionalmente con NaCl_(sat.), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron produciendo dos isómeros separados de (3aR, 7R, 7aS)- 5- (4- metoxibenzil)- 7- metilhexahidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona y (3aR, 7S, 7aR)- 5- (4- metoxibenzil)- 7- metilhexahidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (27% y 8%) . LCMS (*m/z*) : 277.2 (MH⁺) .

15 Síntesis de (3aR, 7R, 7aS)-7-metilhexahidrooxazolo[4,5-c]piridin-2(3H)-ona



20 A una solución de (3aR, 7R, 7aS)- 5- (4- metoxibenzil)- 7- metilhexahidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (0.3 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 2 horas. En este momento la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo la (3aR, 7R, 7aS)- 7- metilhexahidro- oxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (99%). LCMS (*m/z*) : 157.1 (MH⁺).

Síntesis de (3aR, 7R, 7aS)-tert-butil 7-metil-5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3(2H)-carboxilato

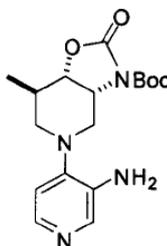


25 Una solución de 4- cloro- 3- nitropiridina (1.3 equiv.) y (3aR, 7R, 7aS)- 7- metilhexahidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (1.5 equiv.) en CH₂Cl₂, a una concentración de 0.1 M, se agitó a rt, durante 48 horas al cual se le adicionó piperidina (0.4 equiv), para consumir el exceso de 4- cloro- 3- nitropiridina. Después de agitar durante otras 2 horas, se adicionaron el di- tert- butil dicarbonato (2.0 equiv.) y la dimetilaminopiridina (0.1 equiv.). Después de agitar durante 4 horas, la solución se sometió a partición entre EtOAc y NaHCO_{3(sat.)}, además se lavó con NaHCO_{3(sat.)}, y NaCl_(sat.), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se purificó por cromatografía de silica gel produciendo el (3aR, 7R, 7aS)-

30

tert- butil 7- metil- 5- (3-nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H) carboxilato (62%) . LCMS (m/z) : 379.0 (MH^+).

Síntesis de (3aR,7R,7aS)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-7-metil-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3(2H)-carboxilato

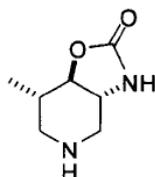


5

A una solución de (3aR, 7R, 7aS)- tert- butil 7- metil- 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5-c] piridina- 3 (2H)- carboxilato (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó paladio sobre carbono al 10% (0.1 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 14 horas. En este momento la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo el (3aR, 7R, 7aS)- tert- butil 5- (3- aminopiridin- 4- il)- 7- metil- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato. LCMS (m/z) : 349.1 (MH^+) ; R_t LC = 2.06 min.

10

Síntesis de (3aR, 7S, 7aR)-7-metilhexahidrooxazolo[4,5-c]piridin-2(3H)-ona

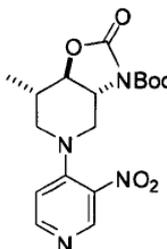


15

A una solución de (3aR, 7S, 7aR)- 5- (4- metoxibenzil)- 7- metilhexa- hidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó hidróxido de paladio sobre carbono al 20% (0.3 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 2 horas. En este momento la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo la (3aR, 7S, 7aR)- 7- metilhexa- hidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (99%). LCMS (m/z) : 157.1 (MH^+).

20

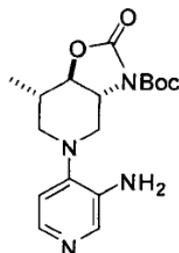
Síntesis de (3aR, 7S, 7aR)-tert-butil 7-metil-5-(3-nitropiridin-4-il)-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3(2H)-carboxilato



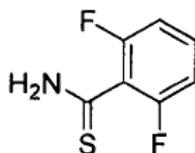
25

Una solución de 4- cloro- 3- nitropiridina (1.3 equiv.) y (3aR, 7S, 7aR)- 7- metilhexahidrooxazolo [4, 5- c] piridin- 2 (3H)-ona (1.5 equiv.) en CH_2Cl_2 , a una concentración de 0.1 M, se agitó a rt, durante 48 horas, en el cual se le adicionó piperidina (0.4 equiv), para consumir el exceso de 4- cloro- 3- nitropiridina. Después de agitar durante otras 2 horas, se adicionaron di- tertbutil dicarbonato (2.0 equiv.) y dimetilaminopiridina (0.1 equiv.). Después de agitar durante 4 horas, la solución se sometió a partición entre EtOAc y $NaHCO_3$ (sat.), además se lavó con $NaHCO_3$ (sat.), y $NaCl$ (sat.), se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se purificó por cromatografía de silica gel (eluyente 75% de EtOAc/ hexanos), produciendo el (3aR, 7S, 7aR)- tert- butil 7- metil- 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexa- hidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato (35%) . LCMS (m/z) : 379.0 (MH^+). R_t LC = 2.42 min.

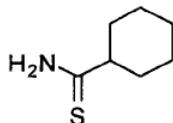
30

Síntesis de (3aR, 7R, 7aS)-tert-butil 5-(3-aminopiridin-4-il)-7-metil-2-oxohexahidrooxazolo[4,5-c]piridina-3 (2H)-carboxilato

- 5 A una solución de (3aR, 7S, 7aR)- tert- butil 7- metil- 5- (3- nitropiridin- 4- il)- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5-c] piridina- 3 (2H)- carboxilato (1.0 equiv.) en metanol, a una concentración de 0.1 M, se le adicionó paladio sobre carbono al 10% (0.1 eq.). La solución heterogénea resultante se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno y se agitó, durante 14 horas. En este momento la mezcla se filtró a través de un lecho de celite eluyendo con metanol. Los volátiles se eliminan *in vacuo*, produciendo el (3aR, 7S, 7aR)- tert- butil 5- (3- aminopiridin- 4- il)- 7- metil- 2- oxohexahidrooxazolo [4, 5- c] piridina- 3 (2H)- carboxilato. LCMS (*m/z*) : 349.1 (MH⁺); R_t LC = 2.18 min.

10 **MÉTODO 3**Síntesis de 2,6-difluorobenzotioamida

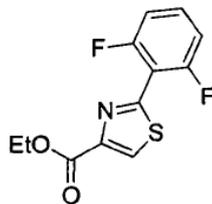
- 15 Una solución de 2, 6 difluorobenzamida (1 eq) y reactivo de Lawesson (0.5 eq.) en tolueno (0.2 M) se calentó a 90°C, durante 14 horas. Después del enfriamiento los volátiles se eliminaron *in vacuo* y se purificaron por cromatografía de SiO₂ (25% de EtOAc/hexanos), produciendo la 2,6-difluorobenzotioamida como un sólido de color amarillo ligero (99%). LCMS (*m/z*): 174.1 (MH⁺); R_t LC = 2.19 min.

Síntesis de ciclohexanocarbotioamida

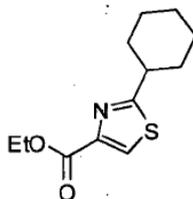
- 20 Siguiendo el Método 3, la ciclohexanocarboxamida y el reactivo de Lawesson se sometieron a reacción, produciendo la ciclohexanocarbotioamida.

LCMS (*m/z*): 144.1 (MH⁺); R_t LC = 5.10 min.

MÉTODO 4

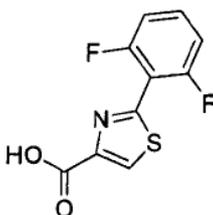
Síntesis de etil 2-(2,6-difluorofenil)tiazol-4-carboxilato

- 5 Una solución de 2, 6- difluorobenzotioamida (1.0 eq) y etilbromopiruvato (1.0 eq.) en etanol (1.0 M) se calentó en el microondas a 130 °C, durante 30 minutos. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, se adicionó acetato de etilo y la solución se lavó con Na_2CO_3 (sat.), con NaCl (sat.), se secó sobre MgSO_4 , se filtró y concentró produciendo el etil 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxilato (84%) . LCMS (*m/z*) : 270.1 (MH^+) ; R_t LC = 3.79 min.

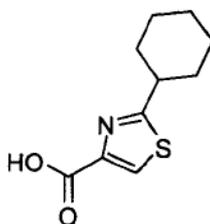
Síntesis de etil 2-ciclohexiltiazol-4-carboxilato

- 10 Siguiendo el Método 4, se utilizó la ciclohexanocarbotioamida para producir el etil 2- ciclohexiltiazol- 4- carboxilato. LCMS (*m/z*) : 240.1 (MH^+) ; R_t LC = 3.90 min.

MÉTODO 5

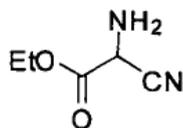
Síntesis del ácido 2-(2,6-difluorofenil)tiazol-4- carboxílico

- 15 A una solución de etil 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxilato (1.0 eq.) en THF/ MeOH 2: 1 (0.17 M), se le adicionó LiOH 1.0 M (2.0 eq.). Después de dejar en reposo durante 16 horas, se le adicionó HCl 1.0 M (2.0 eq.), y se retiró el THF/MeOH *in vacuo*. El sólido resultante se filtró, se aclaró con H_2O y se secó, produciendo el ácido 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol-4- carboxílico (88%) como un sólido crujiente. LCMS (*m/z*) : 251.1 (MH^+) ; R_t LC = 2.68 min.

Síntesis del ácido 2-ciclohexiltiazol-4- carboxílico

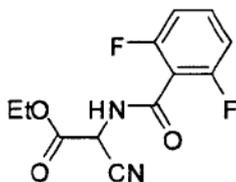
Seguendo el Método 5, se hidrolizó el etil 2- ciclohexiltiazol- 4- carboxilato produciendo el ácido 2- ciclohexiltiazol-4- carboxílico. LCMS (m/z) : 212.1 (MH^+) ; R_t LC = 2.90 min.

Síntesis de etil 2-amino-2-cianoacetato



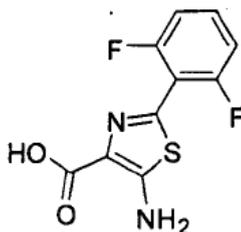
- 5 A una solución de etil 2- ciano- 2- (hidroxiimino) acetato (1eq) en 70 mL de agua y 56 mL de bicarbonato de sodio *ac. sat.*, se le adicionó en porciones a lo largo de 10 minutos $Na_2S_2O_4$ (2.8 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 1 hora. La solución se saturó con cloruro de sodio, se extrajo con cloruro de metileno (300mL x 3) y luego las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto de base, el cual se utilizó sin más en la siguiente etapa (55%). LC/MS (m/z) : 129.0 (MH^+), R_t : 0.25 min.

Síntesis de etil 2-ciano-2-(2,6-difluorobenzamido)acetato



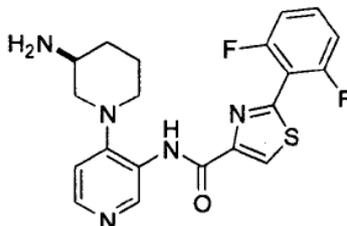
- 15 A una solución de etil 2- amino- 2- cianoacetato (1 eq) en 6 mL de diclorometano, se le adicionó piridina (1.5 eq) y 2, 6- difluorobenzoil cloruro (1 eq) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 3 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, luego se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1:1) para proporcionar el compuesto de base (84%). LC/MS (m/z) : 269.1 (MH^+), R_t : 0.69 min.

Síntesis del ácido 5-amino-2-(2,6-difluorofenil)tiazol-4- carboxílico



- 20 A una solución del etil 2- ciano- 2- (2, 6- difluorobenzamido) acetato (1 eq) en 10 mL de tolueno se le adicionó reactivo de Lawesson. La mezcla se agitó a 95°C, durante 2 días. Los solventes se eliminaron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos = 1:1) para proporcionar el etil 5- amino- 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxilato, el cual se disolvió en 5 mL de metanol y 5 mL de THF. A continuación, se adicionó hidróxido de sodio 1M (2eq) a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se concentró para eliminar la mayoría del solvente. El residuo fue extraído con acetato de etilo. La capa acuosa se acidificó a pH = 4- 5, por medio de HCl 1N. La mezcla resultante fue extraída con acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, luego se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo.*, para proporcionar el compuesto base puro (34%). LC/MS (m/z) : 257.1 (MH^+), R_t : 0.61 min.

MÉTODO 6

Síntesis de (S)-N-(4-(3-aminopiperidin-1-il)piridin-3-il)-2-(2,6-difluorofenil)tiazol-4-carboxamida

Una solución homogénea de 1 eq de cada uno de (S)- tert- butil 1- (3- aminopiridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato, ácido 2-(2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxílico, HOAT y EDC en NMP, a una concentración de 0.38 M, se dejó en reposo, durante 48 horas, momento en el que la mezcla se purificó directamente por HPLC. Después de la liofilización, se obtuvo la sal TFA del (S)- tert- butil 1- (3- (2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamido) piridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato. Alternativamente, las fracciones de HPLC podrían ser adicionadas a EtOAc y Na₂CO₃ sólido, separadas y lavadas con NaCl_(sat.). Después del secado sobre MgSO₄, la filtración y la eliminación de los volátiles *in vacuo*, se obtuvo el (S)- tert- butil 1- (3- (2- (2, 6- difluorofenil) tiazol 4- carboxamido) piridin- 4- il) piperidin- 3- ilcarbamato.

El grupo Boc se retiró por medio del tratamiento con 25% de TFA/CH₂Cl₂, durante 2 horas o con un exceso de HCl 4M en dioxano por 12 horas. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, el material se purificó por HPLC RP produciendo después de la liofilización la (S)- N- (4- (3- aminopiperidin- 1- il) piridin- 3- il)- 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamida como la sal TFA. Alternativamente, las fracciones de HPLC se podrían adicionar a EtOAc y Na₂CO₃ sólido, ser separadas y lavadas con NaCl_(sat.). Después del secado sobre MgSO₄, la filtración y eliminación de los volátiles *in vacuo* se obtuvo la base libre. Después de la disolución en MeCN/H₂O, la adición de 1 eq. de HCl 1 N y la liofilización, se obtuvo la sal HCl de (S)- N- (4- (3- aminopiperidin- 1- il) piridin- 3- il)-2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamida (43 %) . LCMS (*m/z*) : 416.1 (MH⁺) ; R_t LC = 1.95 min.

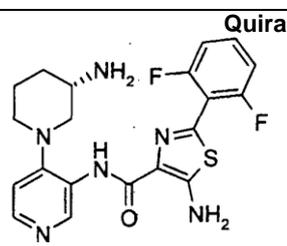
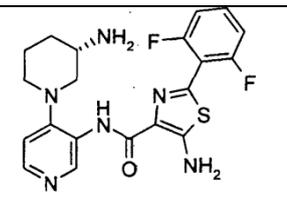
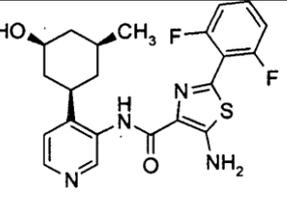
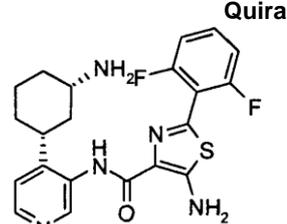
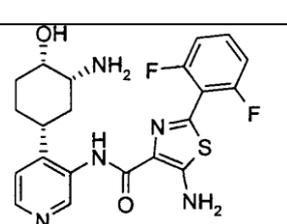
Si los hidroxilos benzoil protegidos estuvieran presentes, se podrían desproteger antes de la eliminación de Boc por medio del tratamiento con hidróxido de sodio 0.2 M (3 eq) en MeOH a temperatura ambiente, durante 3 horas, después de este tiempo la solución se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo* para producir el alcohol protegido con Boc.

Sí un carbamato cíclico de N-Boc, 2 amino alcohol estuviera presente, antes de la desprotección Boc el carbamato cíclico podría ser escindido por medio del tratamiento con Cs₂CO₂ (0.5 eq) en metanol a una concentración de 0.1 M, durante tres horas. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, el grupo amino Boc fue desprotegido como se describe anteriormente.

Sí los éteres TBDMS estuvieran presentes, fueron desprotegidos antes de la eliminación de Boc por medio del tratamiento con HCl 6N, THF, metanol (1:2:1) a temperatura ambiente, durante 2 h. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, el grupo amino Boc fue desprotegido como se describe anteriormente.

Sí un grupo dietoxifosforilamino estuviera presente, la amina fue desprotegida mediante el calentamiento en una solución de dioxano/HCl 2N (ac.) 1:1a 70°C, durante la noche. Después de la eliminación de los volátiles *in vacuo*, el material se purificó por HPLC RP.

Los siguientes compuestos se prepararon utilizando el Método 6:

Ej. No.	Estructura	Nombre del Compuesto	LC/MS (M+H en UPCL)	LC/MS (Rf min en UPLC)
1		(S)-5-amino-N-(4-(3-aminopiperidin-1-il)piridin-3-il)-2-(2,6-difluorofenil) tiazol-4-carboxamida	431.0	0.51
2		5-amino-2-(2,6-difluorofenil)-N-(4-(4-fluoropiperidin-1-il)piridin-3-il)tiazol-4-carboxamida	434.0	0.75
3		5-amino-2-(2,6-difluorofenil)-N-(4-((1R,3S,5S)-3-hidroxi-5-metilciclohexil)piridin-3-il)tiazol-4-carboxamida	445.1	0.7
4		5-amino-N-(4-((1R,3S)-3-aminociclohexil)piridin-3-il)-2-(2,6-difluorofenil) tiazol-4-carboxamida	430.0	0.54
5		5-amino-N-(4-(3-amino-4-hidroxiciclohexil)piridin-3-il)-2-(2,6-difluorofenil) tiazol-4-carboxamida	446.1	0.51

Análisis de depleción de Pim1 ATP

La actividad de PIM1 se determina utilizando un reactivo de detección de ATP basado en luciferasa- luciferina para cuantificar la depleción de ATP resultante a partir de transferencia de fosforilo catalizado por la quinasa a un sustrato de péptido. Los compuestos que se prueban se disuelven en 100% de DMSO y se distribuyen directamente en placas de 384 pozos blancas a 0.5 μ l por pozo. Para iniciar la reacción, se adicionaron en cada pozo 10 μ l de Pim1 quinasa 5 nM y péptido BAD 80 μ M (RSRHSSYPAGT- OH) en solución reguladora de análisis (HEPES 50 mM pH 7.5, MgCl₂ 5 mM, y DTT 1 mM, BSA al 0.05%). Después de 15 minutos, se adicionaron 10 μ l de ATP 40 μ M en solución reguladora de análisis. Las concentraciones del análisis final son PIM1 2.5 nM, ATP 20 μ M, péptido BAD 40 μ M y DMSO al 2.5%. La reacción se lleva a cabo hasta que se agota aproximadamente el 50% del ATP, luego se detiene con la adición de 20 μ l de solución de KinaseGlo Plus (Promega Corporation). La reacción detenida se incubó, durante 10 minutos y el ATP remanente detectado vía luminiscencia en el Víctor2 (Perkin Elmer). Los compuestos de los ejemplos precedentes se probaron, mediante el Análisis de depleción de Pim1 ATP y se encontró que muestran unos valores de IC₅₀ como se muestra en la siguiente tabla. IC₅₀, la concentración inhibitoria máxima

media, representa la concentración de un compuesto de prueba que se necesita para la inhibición del 50% de sus diana *in vitro*.

Análisis de depleción de Pim2 ATP

5 La actividad de PIM2 se determina utilizando un reactivo de detección de ATP basado en luciferasa-luciferina para cuantificar la depleción de ATP resultante de la transferencia de fosforilo catalizado por la quinasa a un sustrato de péptido. Los compuestos que se prueban se disuelven en 100% de DMSO y se distribuyen directamente en placas de 384 pozos blancas a 0.5 μ l por pozo. Para iniciar la reacción, se adicionaron en cada pozo 10 μ l de Pim2 quinasa 10 nM y péptido BAD 20 μ M (RSRHSSYPAGT- OH) en solución reguladora de análisis (HEPES 50 mM pH 7.5, MgCl₂ 5 mM, y DTT 1 mM, BSA al 0.05%). Después de 15 minutos, se adicionaron 10 μ l de ATP 8 μ M en solución reguladora de análisis. Las concentraciones del análisis final son PIM2 5 nM, ATP 4 μ M, péptido BAD 10 μ M y DMSO al 2.5%. La reacción se lleva a cabo hasta que se agota aproximadamente el 50% del ATP, luego se detiene con la adición de 20 μ l de solución KinaseGlo Plus (Promega Corporation). La reacción detenida se incubó, durante 10 minutos y el ATP remanente detectado vía luminiscencia en el Victor2 (Perkin Elmer). Los compuestos de los ejemplos precedentes se probaron, mediante the Análisis de depleción de Pim2 ATP y se encontró que muestran unos valores de IC₅₀ como se muestra en la siguiente tabla.

Análisis de depleción de Pim3 ATP

20 La actividad de PIM3 se determina utilizando un reactivo de detección de ATP basado en luciferasa- luciferina para cuantificar la depleción de ATP resultante de la transferencia de fosforilo catalizado por la quinasa a un sustrato de péptido. Los compuestos que se prueban se disuelven en 100% de DMSO y se distribuyen directamente en placas de 384 pozos blancas a 0.5 μ l por pozo. Para iniciar la reacción, 10 μ l de Pim3 quinasa 10 nM y péptido BAD 200 μ M (RSRHSSYPAGT- OH) en solución reguladora de análisis (HEPES 50 mM pH 7.5, MgCl₂ 5 mM, y DTT 1 mM, BSA al 0.05%) se adicionaron en cada pozo. Después 15 minutos, se adicionaron 10 μ l de ATP 80 μ M en solución reguladora de análisis. Las concentraciones del análisis final son PIM1 5 nM, ATP 40 μ M, péptido BAD 100 μ M y DMSO al 2.5%. La reacción se lleva a cabo hasta que se agota aproximadamente el 50% del ATP, luego se detiene por medio de la adición de 20 μ l de solución KinaseGlo Plus (Promega Corporation). La reacción detenida se incubó, durante 10 minutos y el ATP remanente se detectó vía luminiscencia en el Victor2 (Perkin Elmer). Los compuestos de los ejemplos precedentes se probaron, mediante el análisis de depleción de Pim3 ATP y se encontró que muestran unos valores de IC₅₀ como se muestra en la siguiente tabla.

Análisis de Proliferación Celular

30 KMS 11 (línea celular de mieloma humano), se cultivaron en IMDM suplementado con FBS al 10%, piruvato de sodio y antibióticos. Las células se sembraron en placas en el mismo medio a una densidad de 2000 células por pozo en placas de cultivo de tejido de 96 pozos, con los pozos exteriores libres, en el día del análisis. Se cultivaron MM1.s (línea celular de mieloma humano), en RPMI1640 suplementado con FBS al 10%, piruvato de sodio y antibióticos. Las células se sembraron en placas en el mismo medio a una densidad de 5000 células por pozo en placas de cultivo de tejido de 96 pozos, con los pozos exteriores libres, en el día del análisis.

Los compuestos de prueba suministrados en DMSO se diluyeron en DMSO a 500 veces de las concentraciones finales deseadas antes de la dilución en medio de cultivo a 2 veces las concentraciones finales. Se adicionaron volúmenes iguales de 2x compuestos a las células en placas de 96 pozos y se incubaron a 37 °C, durante 3 días.

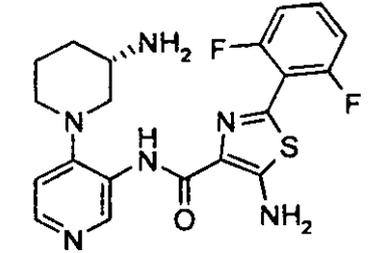
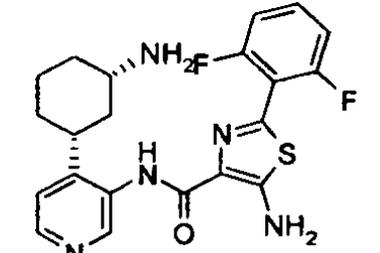
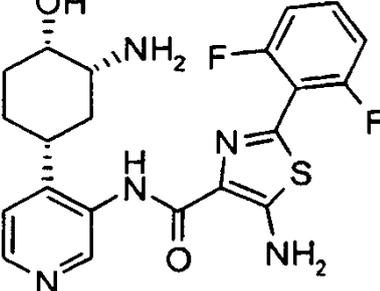
40 Después de 3 días las placas se equilibraron a temperatura ambiente y se adicionó el volumen igual de Reactivo Cell Titer-Glow (Promega), a los pozos de cultivo. Las placas se agitaron brevemente y se midió la señal luminiscente con el luminómetro. Se calculó el porcentaje de inhibición de la señal vista en las células tratadas con DMSO solo vs. las células tratadas con el compuesto control y se utilizó para determinar los valores de EC₅₀ (i.e., la concentración de un compuesto de prueba que se requiere para obtener el 50% del efecto máximo en las células) para los compuestos de prueba, como se muestra en la siguiente Tabla 6.

45 Actividad IC₅₀ y EC₅₀ de los Compuestos de la Invención

Utilizando los procedimientos del Ensayo de depleción de Pim1 ATP (PIM-1), Análisis de depleción de Pim2 ATP (PIM-2), y Análisis de depleción de Pim3 ATP (PIM-3), descritos anteriormente, se determinó la concentración IC₅₀ de los compuestos de los ejemplos anteriores, como se muestra en la siguiente tabla.

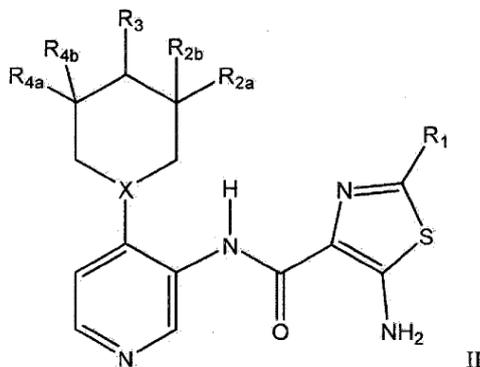
Ej. No.	Estructura	Pim1 IC ₅₀ (μM)	Pim2 IC ₅₀ (μM)	Pim3 IC ₅₀ (μM)
1	<p>Quiral</p>	0.001	0.002	0.002
2		0.001	0.055	0.003
3		0.001	0.005	0.004
4	<p>Quiral</p>	0.001	0.003	0.003
5		0.001	0.004	0.003

Utilizando los procedimientos de los Análisis de Proliferación Celular descritos anteriormente, se determinó la concentración EC₅₀ de los compuestos de los ejemplos anteriores, en células KMS 11 como se muestra en la siguiente tabla.

Ej. No.	Estructura	KMS11 EC ₅₀ (μM)
1	<p style="text-align: right;">Quiral</p> 	0.04
4	<p style="text-align: right;">Quiral</p> 	0.43
5		1.89

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula II, o un estereoisómero, tautómero, o



una sal de este farmacéuticamente aceptable,

5 en donde:

R₁ se selecciona de -NH-CO- alquilo, cicloalquilo no sustituido o sustituido, arilo no sustituido o sustituido, y heteroarilo sustituido o no sustituido;

X representa CH o N;

R_{2a} se selecciona de -H, -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo, amino y benzoato;

10 R_{2b} se selecciona de -H y alquilo;

R₃ se selecciona de H, OH, alquilo, alcoxi y halo;

R_{4a} se selecciona de -OH, alquilo, alcoxi, haloalquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, halo y amino; y

R_{4b} se selecciona de H, alquilo y halo;

15 dónde cicloalquilo, cuando se menciona se refiere a un sustituyente alquilo heterocíclico o carbocíclico mono- o policíclico;

arilo se refiere a un anillo arilo carbocíclico monocíclico o policíclico con 3 a 14 átomos de carbono en el esqueleto; y

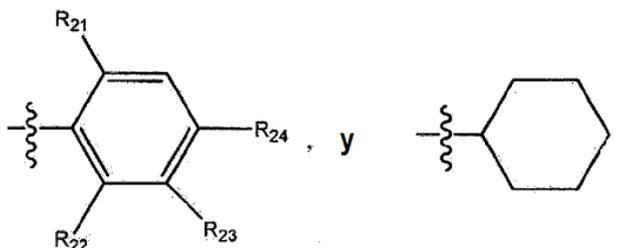
20 sustituido se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un grupo de sustitución seleccionado de hidroxilo, nitro, amino, imino, ciano, halo, tio, sulfonilo, tioamido, amidino, imidino, oxo, oxamidino, metoxamidino, imidino, guanidino, sulfonamido, carboxilo, formilo, alquilo inferior, halo-alquilo inferior, alquilo inferior-amino, halo-alquilo inferior-amino, alcoxi inferior, halo-alcoxi inferior, alcoxi inferior-alquilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, heteroaralquilcarbonilo, alquitio, aminoalquilo, cianoalquilo y arilo, en donde dicho grupo de sustitución por sí mismo puede ser sustituido por un carboxilo, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi inferior, aminocarbonilo, -SR, tioamido, -SO₃H, -SO₂R o cicloalquilo, dónde R es hidrógeno, hidroxilo o alquilo inferior.

25 2. Un compuesto de la Reivindicación 1, en donde R₁ se selecciona de fenilo sustituido o no sustituido, ciclohexilo sustituido o no sustituido, y piperidinilo sustituido o no sustituido;

30 dónde sustituido cuando se menciona se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un grupo de sustitución seleccionado de hidroxilo, nitro, amino, imino, ciano, halo, tio, sulfonilo, tioamido, amidino, imidino, oxo, oxamidino, metoxamidino, imidino, guanidino, sulfonamido, carboxilo, formilo, alquilo inferior, halo-alquilo inferior, alquilo inferior-amino, halo-alquilo inferior-amino, alcoxi inferior, halo-alcoxi inferior, alcoxi inferior-alquilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, heteroaralquilcarbonilo, alquitio, aminoalquilo, cianoalquilo y arilo, en donde dicho grupo de sustitución por sí mismo puede ser sustituido por un

carboxilo, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi inferior, aminocarbonilo, -SR, tioamido, -SO₃H, -SO₂R o cicloalquilo, dónde R es hidrógeno, hidroxilo o alquilo inferior.

3. Un compuesto de la Reivindicación 2, en donde R₁ se selecciona de



5 en donde:

R₂₁ es H o halo;

R₂₂ es H o halo;

R₂₃ se selecciona de H, halo, alquilo y alcoxi; y

R₂₄ es H u OH;

10 4. Un compuesto de la Reivindicación 3, en donde R₂₁ y R₂₂ independientemente se seleccionan de H o F.

5. Un compuesto de la Reivindicación 3, en donde R₂₃ se selecciona de H, Cl, F, -OC₂H₅, -OCH₃, y -OCH(CH₃)₂.

6. Un compuesto de la Reivindicación 1, en donde R_{2a} se selecciona de H, metilo, etilo, metoxi, etoxi, fluorometilo, trifluorometilo, aminometilo y hidroximetilo.

7. Un compuesto de la Reivindicación 1, en donde R₃ se selecciona de H, -OH, metilo, metoxi, F y Cl.

15 8. Un compuesto de la Reivindicación 1, en donde R_{4a} se selecciona de -OH, metilo, etilo, trifluorometilo, metoxi, etoxi, amino, F y Cl.

9. Un compuesto de la Reivindicación 1, en donde R_{4b} se selecciona de metilo y F.

10. Un compuesto de la Reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste de (S)- 5- amilo- N- (4- (3- aminopiperidin- 1- il) piridin-3- il)- 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamida,

20 5- amino- 2- (2, 6- difluorofenil)- N- (4- (4- fluoropiperidin- 1- il) piridin- 3- il) tiazol- 4- carboxamida,

5- amino- 2- (2, 6- difluorofenil)- N- (4- ((1R, 3S; 5S)- 3- hidroxilo- 5- metilciclohexil) piridin- 3- il) tiazol- 4- carboxamida,

5- amino- N- (4- ((1R, 3S)- 3- aminociclohexil) piridin- 3- il)- 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamida,

y 5- amino- N- (4- (3- amino- 4- hidroxiciclohexil) piridin- 3- il)- 2- (2, 6- difluorofenil) tiazol- 4- carboxamida,

o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable.

25 11. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a la Reivindicación 10, o un estereoisómero, tautómero, o sal de este farmacéuticamente aceptable, junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

12. Un compuesto de cualquiera de Reivindicaciones 1 a la Reivindicación 10, para utilizar como un agente terapéutico.

- 13.** El compuesto para utilizar de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el uso es tratar el cáncer seleccionado del grupo que consiste de cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de ovarios, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, melanoma, leucemia mieloide, mieloma múltiple, eritroleucemia, adenomas, y sarcomas.
- 5 **14.** Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a la Reivindicación 10, para utilizar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 15.** Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a la 10, para utilizar como agente farmacéutico activo en combinación con uno o más otros agentes utilizados en el tratamiento del cáncer.