

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 502**

51 Int. Cl.:

C07D 239/48 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07D 407/12 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2009 E 09742982 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 2323993**

54 Título: **2,6-Diamino-pirimidin-5-il-carboxamidas como inhibidores de syk o JAK quinasas**

30 Prioridad:

16.04.2008 US 45406 P

05.12.2008 US 120346 P

05.12.2008 US 120348 P

16.04.2008 US 45499 P

05.12.2008 US 120341 P

16.04.2008 US 45399 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.09.2015

73 Titular/es:

PORTOLA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)

270 East Grand Avenue Suite 22

South San Francisco California 94080, US

72 Inventor/es:

JIA, ZHAOZHONG J.;

VENKATARAMANI, CHANDRASEKAR;

HUANG, WOLIN;

MEHROTRA, MUKUND;

SONG, YONGHONG;

XU, QING;

BAUER, SHAWN M.;

PANDEY, ANJALI;

KANE, BRIAN y

ROSE, JACK W.

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 546 502 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

2,6-Diamino-pirimidin-5-il-carboxamidas como inhibidores de syk o JAK quinasas

Antecedentes de la invención

5 Esta invención está orientada a compuestos de pirimidina-5-carboxamida que actúan como inhibidores de la tirosina quinasa del bazo (syk, spleen tyrosine kinase) y/o de las JAK quinasas. Esta invención está también orientada a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de pirimidin-5-carboxamida y a métodos para utilizar los compuestos o composiciones para tratar una condición caracterizada por otras indicaciones. La invención también está orientada a métodos para producir los compuestos descritos en la presente.

Estado de la técnica

10 Las proteínas quinasas constituyen una gran familia de enzimas estructuralmente relacionadas entre sí que son responsables del control de una variedad de procesos de transducción de señales dentro de las células (Véanse, por ejemplo, Hardie y Hanks, *The Protein Kinase Facts Book*, I y II, Academic Press, San Diego, Calif., 1995). Se considera que las proteínas quinasas han evolucionado a partir de un gen ancestral en común debido al hecho de haber conservado su estructura y función catalítica. Casi todas las quinasas contienen un dominio catalítico similar de 250-300

15 aminoácidos. Las quinasas pueden clasificarse en familias por medio de los sustratos que fosforilan (por ejemplo, la proteína tirosina, la proteína serina/treonina, los lípidos, etc.). Se han identificado motivos de secuencias que en términos generales corresponden a cada una de estas familias (Véanse, por ejemplo, Hanks y Hunter, (1995), *FASEB J.* 9:576-596; Knighton et al., (1991), *Science* 253:407-414; Hiles et al., (1992), *Cell* 70:419-429; Kunz et al., (1993), *Cell* 73:585-596; García-Bustos et al., (1994), *EMBO J.* 13:2352-2361).

20 Muchas enfermedades están asociadas con respuestas celulares anormales desencadenadas por eventos mediados por proteínas quinasas. Estas enfermedades incluyen enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades de los huesos, enfermedades metabólicas, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, cáncer, enfermedades cardiovasculares, alergias, asma, enfermedad de Alzheimer y enfermedades relacionadas con las hormonas. Como consecuencia, se han realizado importantes esfuerzos en la química médica para hallar inhibidores de las

25 proteínas quinasas para su uso como agentes terapéuticos.

La señalización mediada por el motivo de activación de la tirosina de inmunoreceptor (ITAM, inmunoreceptor tyrosine activation motif) se ha presentado como un acontecimiento primario en las trayectorias de señalización responsables de patologías humanas. La señalización mediada por ITAM es responsable del retardo de las señales de activación iniciadas en los inmunoreceptores clásicos tales como los receptores de células T, receptores de células B, receptores de Fc en células inmunes y en el GPVI y FcγRIIa en las plaquetas relacionadas con moléculas intracelulares situadas corriente abajo tales como syk y ZAP-70 (Underhill, D.M y Goodridge, H. S., *Trends Immunol.*, 28:66-73, 2007).

30

La ligación de un ligando a un receptor que contiene ITAM desencadena acontecimientos de señalización, lo que permite el reclutamiento de proteínas de una familia de tirosinas quinasas no receptoras llamada la familia Src. Estas quinasas fosforilan residuos de tirosina dentro de la secuencia del ITAM, que es una región con la que interactúan los dominios

35 tándem de SH2 sea sobre syk sea sobre ZAP-70.

Syk, junto con Zap-70, es un miembro de la familia syk de las proteínas tirosina quinasas. La interacción de syk o de ZAP-70 con secuencias de ITAM difosforilado induce un cambio de conformación en las quinasas que permite la fosforilación de la tirosina quinasa propiamente dicha. Los miembros fosforilados de la familia Syk activan una pluralidad de proteínas de trayectorias de señalización corriente abajo que incluyen el dominio Src homólogo 2 (SH2) que contiene

40 fosfoproteína específica de leucocitos de 76 kDa (SLP-76), Linker de la activación de células T (LAT) y PLC (fosfolipasa C)γ2.

Las patologías humanas atribuidas a una señalización disfuncional mediada por ITAM incluyen las enfermedades autoinmunes tales como la artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis múltiple, anemia hemolítica, púrpura inmune-trombocitopenia, y trombocitopenia inducida por heparina y arteriosclerosis. Es interesante observar que se considera

45 que muchas de las enfermedades mencionadas arriba se deben al enlace cruzado de los receptores Fc por anticuerpos que, por intermedio de syk, activan una cascada de de señalización en células germinales, basófilas y otras células inmunes, lo que tiene como resultado la liberación de mediadores de células responsables de reacciones inflamatorias. La liberación de mediadores y la producción de citoquinas en las reacciones alérgicas e inflamatorias dependientes de la estimulación de IgE a partir de células germinales y basófilos pueden controlarse mediante la inhibición de la actividad de tirosina quinasa de syk (Rossi, A.B. et al., *J Allergy Clin Immunol.*, 118:749-755, 2006). En la inmunotrombocitopenia,

50 las plaquetas ligadas por anticuerpos son liberadas por el bazo mediante un proceso mediado por receptor Fc /ITAM/syk

(Crow, A.R. et al., Blood, 106: abstract 2165, 2005). La trombocitopenia inducida por droga, causada por inmunocomplejos heparina-plaqueta factor 4 que activan Fc γ R1IIa de plaquetas, también implican señalización syk corriente abajo del acoplamiento del receptor (Reilly, M.P., Blood, 98:2442-2447, 2001).

5 Los agonistas de plaquetas inducen la señalización de integrina dentro-fuera, resultando la ligación de fibrinógeno y agregación de plaquetas. Esto inicia una señalización fuera-dentro que produce una mayor estimulación de las plaquetas. El syk se activa durante ambas fases de la señalización de la integrina, y se observa que la inhibición del syk inhibe la adhesión de las plaquetas a las proteínas inmovilizadas (Law, D.A. et al., Blood, 93:2645-2652, 1999). La liberación de ácido araquidónico y de serotonina, y la agregación de las plaquetas inducida por colágeno, son marcadamente inhibidas en las plaquetas derivadas de ratones deficientes en syk (Poole, A. et al., EMBO J., 16:2333-2341, 1997). Por lo tanto, los inhibidores de syk también pueden tener una acción de anticoagulación.

Debido al rol que desempeña el syk en las activaciones de plaquetas inducidas por Ig, es probable que sea importante en la arteriosclerosis y en la restenosis. La arteriosclerosis es una clase de enfermedades caracterizada por el engrosamiento y endurecimiento de las paredes arteriales de los vasos sanguíneos. Si bien todos los vasos sanguíneos están expuestos a esta severa condición degenerativa, son la aorta y las arterias coronarias que sirven al corazón, las más frecuentemente afectadas. La arteriosclerosis tiene una profunda importancia clínica ya que puede incrementar el riesgo de ataques cardíacos, infartos de miocardio, accidentes cerebrovasculares y aneurismas.

El tratamiento tradicional para la arteriosclerosis incluye procedimientos de recanalización para los bloqueos menos serios y cirugía de bypass coronario para los bloqueos más importantes. Una seria desventaja de los procedimientos intravasculares es que, en una cantidad significativa de personas tratadas, algunos de los vasos tratados, o todos ellos, desarrollan una restenosis (es decir, vuelven a angostarse). Por ejemplo, la restenosis de arteria coronaria aterosclerótica después de PTCA se presenta en el 10-50% de los pacientes tratados con este procedimiento, y esto subsiguientemente obliga a una angioplastia posterior o a un injerto de bypass de arteria coronaria. Por otra parte, la restenosis de una arteria coronaria aterosclerótica después de la colocación de un stent tiene lugar en el 10-20% de los pacientes tratados con este procedimiento, y subsiguientemente requiere tratamientos de repetición para mantener un adecuado flujo de sangre a través de la arteria afectada. Por lo general la restenosis se presenta en un período de tiempo relativamente breve, por ejemplo, aproximadamente inferior a seis meses, después del tratamiento.

Si bien no se han determinado los procesos hormonales y celulares exactos que promueven la restenosis, se considera que la restenosis se debe en parte a lesiones mecánicas en las paredes de los vasos sanguíneos causados por el catéter del balón o por otro dispositivo intravascular. Por ejemplo, el proceso del PTCA, además de abrir la arteria obstruida, también lesiona las células de los músculos lisos arteriales coronarios residentes (SMCs, smooth muscle cells). En respuesta a esta lesión, las plaquetas adheridas, los macrófagos infiltrantes, los leucocitos, o las células de los músculos lisos como tales liberan factores de crecimiento derivados de las células tales como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, platelet-derived growth factor), con subsiguiente proliferación y migración de SMCs mediales a través de la lámina elástica interna de la túnica íntima del vaso. La continuación de la proliferación y la hiperplasia de los SMCs intimaes, y lo que es significativo, la producción de grandes cantidades de matriz extracelular a lo largo de un período de tres a seis meses tiene como resultado un relleno y angostamiento del espacio vascular suficientes para obstruir de manera significativa el flujo de la sangre.

Además del rol que syk desempeña en las activaciones de las plaquetas inducidas por Ig, syk desempeña un papel muy importante en la señalización mediada por colágeno. La proteína adhesiva primaria responsable de la adhesión y activación de las plaquetas es el colágeno. El colágeno es una proteína filamentosa contenida dentro de las capas fibróticas de ateromas que se exponen a la sangre durante la ruptura de las placas. El colágeno funciona inicialmente ligando el factor de Von Willebrand que restringe las plaquetas mediante la ligación a GPIb en la membrana de las plaquetas. El colágeno funciona secundariamente mediante el acoplamiento de dos receptores de colágeno sobre plaquetas, el GPVI y la integrina α 2 β 1.

45 El GPVI existe en las membranas de las plaquetas en forma de un complejo con FcR γ , lo que es una interacción requerida para la expresión del GPVI. La activación del Fc γ R1IIa sobre las plaquetas tiene como resultado un cambio en la forma, secreción y trombosis de las plaquetas. La señalización mediante el complejo GPVI/FcR γ es iniciado por la fosforilación de tirosina del dominio de ITAM del FcR γ seguido por reclutamiento de syk. La activación del GPVI conduce a la inducción de múltiples funciones de las plaquetas que incluyen: la activación de las integrinas α 2 β 1 para llevar a cabo la adhesión firme de las plaquetas, y el GP IIb-IIIa que media la agregación de las plaquetas y el desarrollo de la trombosis; la secreción de las plaquetas, lo que permite la entrega de proteínas inflamatorias tales como CD40L, RANTES y TGF β a las paredes de los vasos; y la expresión de P-selectina, lo que permite el reclutamiento de leucocitos. Por ello se cree los inhibidores de syk pueden inhibir los acontecimientos trombóticos mediados por la adhesión, activación y agregación de las plaquetas.

Se ha informado que la fosforilación de tirosina de proteína intracelular (activación) inducida por estimulación de un receptor para el anticuerpo IgG, FcγR, y la fagocitosis mediada por FcγR son considerablemente inhibidas en los macrófagos derivados de ratones deficientes en syk (Crowley, M.T. et al., *J. Exp. Med.*, 186:1027-1039, 1997). Esto sugiere que el syk tiene un rol marcadamente importante en la fagocitosis mediada por FcγR de los macrófagos.

5 También se ha informado que un oligonucleótido antisentido de syk suprime la inhibición de la apoptosis de los eosinófilos inducida por GM-CSF (Yousefi, S. et al., *J. E. Med.*, 183:1407-1414, 1996), lo que muestra que el syk es esencial para la señal de extensión de la vida, de los eosinófilos causada por el GM-CSF y similares. Dado que la extensión de la vida de los eosinófilos está estrechamente relacionada con la transición de las enfermedades a un estado crónico en los trastornos alérgicos, tales como el asma, los inhibidores de syk también pueden servir como
10 agentes terapéuticos para la inflamación eosinófila crónica.

El syk es importante para la activación de las células B por medio de un receptor del antígeno de las células B, e interviene en el metabolismo del fosfatidilinositol y del incremento en la concentración del calcio intracelular causada por la estimulación del receptor del antígeno (Hutchcroft, J E. et al., *J. Biol. Chem.*, 267:8613-8619, 1992; y Takata, M. et al., *EMBO J.*, 13:1341-1349, 1994). Por lo tanto, los inhibidores del syk pueden utilizarse para controlar la función de las
15 células B y, por lo tanto se prevé que servirán como agentes terapéuticos para las enfermedades relacionadas con anticuerpos.

El Syk se liga al receptor del antígeno de las células T, experimenta rápidamente una fosforilación de tirosina por intermedio de la ligación reticulada del receptor y actúa sinérgicamente sobre las señales intracelulares mediadas por las Src tirosina quinasas tales como el Lck (Couture, C. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:5301-5305, 1994; y Couture, C. et al., *Mol. Cell. Biol.*, 14:5249-5258, 1994). El syk se halla presente en las poblaciones de células T maduras, tales como las células T γδ intraepiteliales y las células T αβ sin estimular, y se ha informado de que es capaz de fosforilar múltiples componentes de la cascada de señalización de TCR (Latour, S. et. al., *Mol Cell Biol.*, 17:4434-4441, 1997). Como consecuencia, los inhibidores de syk pueden servir como agentes para inhibir la inmunidad celular mediada por el receptor de antígeno de células T.
20

Los estudios de hibridación genómica comparativos recientes han identificado el syk como otro gen importante en la patogénesis del linfoma de células de manto (MCL, Mantle Cell Lymphoma) (Chen, R. et al. *Journal of Clinical Oncology*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 25, No 18S (Suplemento del 20 de junio), 2007: 8056). El MCL representa el 5-10% de todos los linfomas no Hodgkins, y se trata de una forma de linfoma de difícil tratamiento. Su pronóstico es el peor entre los linfomas de células B, con una supervivencia media de tres años. Se ha informado que el Syk está sobreexpresado en el MCL (Rinaldi, A, et al., *Br. J. Haematol.*, 2006; 132:303-316) y que el Syk media las señales de supervivencia de mTOR (mammalian target of Rapamycin, objetivo humano de la rapamicina) en los linfomas no Hodgkin foliculares, células de manto, células de Burkitt, y difuso de de células B grandes (Leseux, L., et. al, *Blood*, 2006; 108:4156-4162).
25

Diversas líneas de evidencia sugieren que muchos linfomas de células B dependen de las señales de supervivencia mediadas por el BCR (B-cell receptor, receptor de células B). El BCR de señalización induce la oligomerización y fosforilación de motivos activados basados en Igα y β inmunorreceptor tirosina por las quinasas de la familia SRC. La fosforilación de ITAM tiene como resultado el reclutamiento y activación del syk que inicia acontecimientos corriente abajo y amplifica la señal de BCR original. Dado el rol del BCR tónico de señalización en la célula B normal y en la supervivencia dependiente de syk de las cepas de células no Hodgkins in vitro (Chen, L., et al., *Blood*, 2006; 108:3428-3433), la inhibición del syk es un objetivo de tratamiento racional prometedor para determinados linfomas de células B y para la leucemia linfocítica crónica (CLL; chronic lymphocytic leukemia) (Stefania Gobessi, Luca Laurenti, Pablo Longo, Laura Carsetti, Giuseppe Leone, Dimitar G. Efremov, Constitutive activation of the protein tyrosine kinase Syk in Chronic Lymphocytic Leukemia B-cells, *Blood*, 2007, 110, Abstract 1123). Los datos recientes muestran que la administración de un inhibidor de multiquinasa que inhiba el syk, puede tener una actividad clínica significativa en los pacientes de CLL (Friedberg JW et al, *Blood* 2008; 112(11), Abstract 3).
35
40
45

El potencial oncogénico del Syk (spleen tyrosine kinase, tirosina quinasa de bazo) ha sido descrito en una variedad de diferentes entornos. Desde el punto de vista clínico, la sobreexpresión de Syk ha sido informada en el Linfoma de Células de Manto (Mantle Cell Lymphoma) (Rinaldi, A, et al., *Br. J. Haematol.*, 2006; 132:303-316) y la proteína de fusión TEL-Syk (Translocated ETS Leukemia, Leucemia ETS Translocalizada) generada por la translocación cromosomal (t(9;12)(q22;p12)) conduce a una actividad acrecentada de Syk y está asociada con el síndrome mieloplásico (Kuno, Y., et al., *Blood*, 2001; 97:1050-1055). Se induce la leucemia en ratones mediante la transferencia adoptiva de células de médula ósea que expresan el TEL-Syk humano (Wossning, T., *JEM*, 2006; 203:2829-2840). Además, en las células de médula ósea primaria de ratones, la sobreexpresión de Syk resulta en un desarrollo independiente de IL-7 en cultivo (Wossning, T., et al., *JEM*, 2006; 203:2829-2840).
50

Es interesante comprobar que la señalización Syk parece ser necesaria para el desarrollo y supervivencia de las células B en humanos y ratones. La pérdida inducible del receptor de células B (Lam, K., et al., *Cell*, 1997; 90:1073-1083) o Igα (Kraus, M., et al., *Cell*, 2004; 117:787-800) tiene como resultado la pérdida de células B periféricas en los ratones. La sobreexpresión de la proteína tirosina fosfatasa PTP-RO, de la que se sabe que regula negativamente la actividad del Syk, inhibe la proliferación e induce la apoptosis en cepas de células derivadas de linfomas no Hodgkin (Chen, L., et al., *Blood*, 2006; 108:3428-3433). Finalmente, los linfomas de células B raramente presentan una pérdida de la expresión de BCR, y la terapia anti-idiotipo raramente conduce a una resistencia (Kuppers, R. *Nat Rev Cancer*, 2005; 5:251-262).

La unión al receptor de células B específico de antígeno intervención (BCR) activa múltiples trayectorias de señalización que en última instancia regulan el estado de la activación de las células, promoviendo la supervivencia y la expansión clonal. La señalización por intermedio del BCR se hace posible por su asociación con dos otros miembros de la superfamilia de la inmunoglobulina, Igα y Igβ, cada uno de los cuales lleva un motivo de activación basado en inmunotirosina (ITAM, immuno-tyrosine based activation motif) (Jumaa, Hendriks et al. *Annu Rev Immunol* 23: 415-45 (2005). El dominio del ITAM es directamente fosforilado por las quinasas de la familia Src en respuesta a la intervención de BCR. El Syk (spleen tyrosine kinase, tirosina quinasa de bazo) se acopla con, y fosforila, el ITAM, proceso éste que refuerza su actividad de quinasa, resultando la autofosforilación del Syk y la fosforilación de tirosina de múltiples sustratos situados corriente abajo (Rolli, Gallwitz et al. *Mol Cell* 10(5): 1057-69 (2002). Esta trayectoria de señalización es activa en las células B que empieza en la transición desde la etapa prodesarrollo a predesarrollo de las células B, cuando se expresa el pre-BCR. De hecho, el desarrollo de las células B se detiene en la etapa de las células B en los ratones con Syk inactivado (Cheng, Rowley et al. 1995; Turner, Mee et al. *Nature* 378(6554): 303-6 (1995). La pérdida inducible del receptor de células B (Lam, Kuhn et al. *Cell* 90(6): 1073-83 (1997) o Igα (Kraus, Alimzhanov et al. *Cell* 117(6): 787-800 (2004) tiene como resultado la pérdida de células B en los ratones. Las células B humanas también parecen requerir Syk para su proliferación y supervivencia. La sobreexpresión de la proteína tirosina fosfatasa PTP-RO, que es un regulador negativo de la actividad del Syk, inhibe la proliferación e induce la apoptosis en cepas de células derivadas de linfomas no Hodgkin (NHL) (Chen, Juszczynski et al. *Blood* 108(10): 3428-33 (2006). La inactivación de Syk por ARNsi en la cepa NHL SUDHL-4 condujo a un bloqueo en la transición G1/S del ciclo de las células (Gururajan, Dasu et al. *J Immunol* 178(1): 111-21 (2007). En su conjunto, estos datos sugieren que la señalización de Syk es necesaria para el desarrollo, proliferación, y aún la supervivencia de células B humanas y de ratón.

A la inversa, el potencial oncogénico del Syk ha sido descrito en una cantidad de diferentes entornos. Clínicamente, la sobreexpresión del Syk ha sido objeto de informes en el caso del Linfoma de las Células de Manto (Mantle Cell Lymphoma) (Rinaldi, Kwee et al. *Br J Haematol* 132(3): 303-16 (2006) y la proteína de fusión TEL-Syk (Translocated ETS Leucemia. Leucemia de ETS translocalizada) generada por translocación cromosomal (t(9;12)(q22;p12)) conduce a una mayor actividad de Syk y está asociado con el síndrome mielodisplásico (Kuno, Abe et al. *Blood* 97(4): 1050-5 (2001). Se induce la leucemia en ratones mediante la transferencia adoptiva de células de médula ósea que expresan TEL-Syk humano (Wossning, Herzog et al. *J Exp Med* 203(13): 2829-40 (2006). Por otra parte, en las células de médula ósea de ratón, la sobreexpresión de Syk resulta en un desarrollo independiente de IL-7 en cultivo (Wossning, Herzog et al. 2006). Se ha informado de manera coherente que el Syk media las señales de supervivencia de mTOR (mammalian target of Rapamycin, objetivo humano de rapamicina) en NHL folicular, de células del manto, de Burkitt y difuso de células B grandes (Leseux, Hamdi et al. *Blood* 108(13): 4156-62 (2006). Los estudios adicionales recientes también sugieren que las señales de supervivencia dependientes de Syk pueden desempeñar un rol en las enfermedades malignas de las células B, lo que incluye el DLBCL, el linfoma de las células de manto y el linfoma folicular (Gururajan, Jennings et al. 2006; Irish, Czerwinski et al. *J Immunol* 176(10): 5715-9 (2006). Dado el rol del BCR tónico de señalización en las células B normales y en la supervivencia dependiente de Syk de las cepas NHL de líneas celulares in vitro, la inhibición específica del Syk puede demostrar ser una promesa para el tratamiento de determinados linfomas de las células B.

Recientemente, se ha informado que el R406 (Rigel Pharmaceuticals) inhibe la señalización de ITAM en respuesta a diversos estímulos, lo que incluye la activación de Syk inducida por FcεR1 y BCR (Brasemann, Taylor et al. *J Pharmacol Exp Ther* 319(3): 998-1008 (2006). Es interesante comprobar que este inhibidor competitivo con ATP resulta también ser activo contra las Flt3, cKit, y JAK quinasas, pero no contra la Src quinasa (Brasemann, Taylor et al. 2006). Las mutaciones de activación a Flt3 están asociadas a AML, y la inhibición de esta quinasa se halla actualmente bajo desarrollo clínico (Burnett y Knapper *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007: 429-34 (2007). La sobreactivación de la tirosina quinasa cKit está también asociada con enfermedades malignas hematológicas, y son un objetivo para la terapia de cáncer (Heinrich, Griffith et al. *Blood* 96(3): 925-32 (2000). De manera similar, la señalización de JAK3 interviene en leucemias y linfomas, y en la actualidad se utiliza como objetivo terapéutico potencial (Heinrich, Griffith et al. 2000). Es importante que la actividad inhibidora de múltiples quinasas del R406 atenúa la señalización de BCR en cepas de linfomas de células y muestras de linfoma humano, resultando en la apoptosis de aquellas (Chen, Monti et al. *Blood* 111(4): 2230-7 (2008). Por otra parte, una prueba clínica de fase II fue objeto de un informe de resultados favorables logrados con este compuesto en el NHL refractario y en la leucemia linfocítica crónica (Friedberg

JW et al, Blood 2008; 112(11), Abstract 3). Si bien el mecanismo exacto de acción no está claro para el R406, los datos sugieren que la inhibición de las quinasas que median la señalización de supervivencia en los linfocitos es beneficiosa desde el punto de vista clínico.

5 Estudios adicionales recientes también sugieren que las señales de supervivencia dependientes de syk pueden desempeñar un rol en las enfermedades malignas de las células B, lo que incluye el DLBCL, el linfoma de las células de manto y el linfoma folicular (véanse por ejemplo, S. Linfengshen et al. Blood, Feb. 2008; 111: 2230-2237; J. M. Irish et al. Blood, 2006; 108: 3135-3142; A. Renaldi et al. Brit J. Haematology, 2006; 132: 303-316; M. Guruoajan et al. J. Immunol, 2006; 176: 5715-5719; L. Laseux et al. Blood, 2006; 108: 4156-4162.

10 Las Patentes y Solicitudes de Patente que describen compuestos de pirimidindiamina sustituida incluyen: la Solicitud de Patente de los EE.UU. Ser. No. 10/355,543 presentada el 31 de enero de 2003 (US2004/0029902A1), la Solicitud Internacional Serie No. PCT/US03/03022 presentada el 31 de enero de 2003 (WO 03/063794), la Solicitud de Patente de los EE.UU. Ser. No. 10/631,029 presentada el 29 de julio de 2003, la Solicitud Internacional Serie No. PCT/US03/24087 (WO 04/014382), la Solicitud de Patente de los EE.UU. Ser. No. 10/903,263 presentada el 30 de julio de 2004, y la Solicitud Internacional Serie No. PCT/US2004/24716 (WO 05/016893). También se describen compuestos de pirimidindiamina sustituida en las publicaciones de Solicitudes Internacionales Números: WO 02/059110, WO 03/074515, WO 03/106416, WO 03/066601, WO 03/063794, WO 04/046118, WO 05/016894, WO 05/122294, WO 05/066156, WO 03/002542, WO 03/030909, WO 00/39101, WO 05/037800 y en la Pub. Pat. de los EE.UU. No. 2003/0149064.

20 EP1054004, WO2006/027377, WO2006/027378, US2004/029902, EP1518855, WO2005/012294, WO03/063794, WO2004/014382 y US2008/139531 todas describen derivados de pirimidina sustituidos 2,4-diamino.

EP1054004, WO2006/027377, WO2006/027378, US2004/029902, WO2005/012294, WO03/063794 y US2008/139531 describen además que dichos compuestos son inhibidores de SYK.

Hisamichi et al en Bioorganic & Medicinal Chemistry 2005, Vol. 13(16), páginas 4936-4951 describe: "Synthetic studies on novel Syk inhibitors: Synthesis and structure-activity relationships of pyrimidine-5-carboxamide derivatives".

25 Shinya Nagashima et al en Bioorganic & Medicinal Chemistry 2006, Vol. 15(2), páginas 1044-1055 describe: "Synthesis and evaluation of 2-[[2-(4-hydroxyphenyl)-ethyl]amino]pyrimidine-5-carboxamide derivatives as novel STAT6 inhibitors".

Armando G. Villaseñor et al en Chemical Biology & Drug Design 2009, Vol. 73(4), páginas 466-470 describe: "Structural insights for design of potent spleen tyrosine kinase inhibitors from crystallographic analysis of three inhibitor complexes".

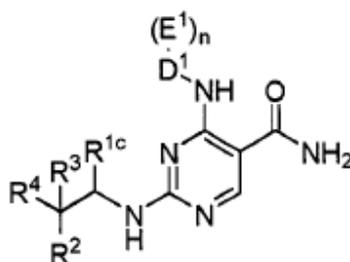
30 Hirabayashi et al en Bioorganic & Medicinal Chemistry 2008, Vol. 16(15), páginas 7347-7357 describe: "A novel Syk family kinase inhibitor: Design, synthesis and structure-activity relationship of 1,2,4-triazolo[4,3-c]pyrimidine and 1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidine derivatives".

Eva Papp et al describe en Biochemistry 2007, Vol 46(51), páginas 15103-15114: "Steady state kinetics of spleen tyrosine kinase investigated by a real time fluorescence assay".

35 Si bien en este campo se han hecho progresos, en la especialidad sigue habiendo una necesidad de compuestos que inhiban las syk quinasas, como también de métodos para tratar condiciones en un paciente, tales como la restenosis, trombosis, y/o la inflamación, que puedan beneficiarse de tal inhibición. Por otra parte, también sería deseable la disponibilidad de compuestos que de manera selectiva inhiban una de estas quinasas en comparación con otras quinasas. La presente invención satisface esta necesidad, y otras.

Breve resumen de la invención

40 La presente invención provee nuevos compuestos que tienen una actividad como inhibidores de la actividad del syk (que en la presente también reciben la designación de "inhibidores de syk"), y/o actividad quinasa (que en la presente también reciben la designación de "inhibidores de JAK"). En la presente también se describen métodos para su preparación y uso. Tales compuestos tienen la siguiente estructura (I):



(I)

o un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, siendo D^1 , E^1 , R^{1c} , R^2 , R^3 y R^4 como se definen en lo que sigue.

5 La presente invención también provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I, o un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la presente invención son útiles en una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, y pueden utilizarse para tratar una variedad de condiciones, mediadas al menos parcialmente por la actividad del syk, tanto en hombres como en mujeres, así como también en mamíferos en general (que en la presente también reciben la designación de "sujeto"). Por ejemplo, tales condiciones incluyen, pero no se limitan a, las asociadas con enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria o enfermedad autoinmune. Más específicamente, los compuestos de la presente invención tienen una utilidad para condiciones o trastornos que incluyen, pero no se limitan a: restenosis, trombosis, inflamación, trombocitopenia inducida por heparina, cardiomiopatía dilatada, enfermedad de las células en hoz, aterosclerosis, infarto de miocardio, inflamación vascular, angina inestable, síndromes coronarios agudos, alergia, asma, artritis reumatoide, enfermedades medidas por las células B tales como el linfoma que no es de Hodgkin, síndrome antifosfolípido, lupus, soriasis, esclerosis múltiple, enfermedad renal de etapa final, anemia hemolítica, púrpura inmune trombocitopénica y leucemia linfocítica crónica. Por lo tanto, en una forma de realización, se revelan métodos que incluyen la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I), típicamente en la forma de una composición farmacéutica, a un sujeto que lo necesite.

20 Las condiciones asociadas con enfermedad cardiovascular se seleccionan del grupo consistente en síndrome coronario agudo, infarto de miocardio, angina inestable, angina refractaria, trombosis coronaria oclusiva que se presenta después de terapia posttrombolítica o de la angioplastia postcoronaria, un síndrome cerebrovascular mediado trombóticamente, apoplejía embólica, apoplejía trombótica, ataques isquémicos transitorios, trombosis venosa, trombosis de las venas profundas, embolismo pulmonar, coagulopatía, coagulación intravascular diseminada, púrpura trombocitopénica trombótica, thromboangiitis obliterans, enfermedad trombótica asociada con trombocitopenia inducida por heparina, complicaciones trombóticas asociadas con circulación extracorpórea, complicaciones trombóticas asociadas con instrumentación tales como cateterización cardíaca u otras instrumentaciones intravasculares, bomba de balón intra-aórtico, stent coronario o válvula cardíaca, y condiciones que requieran la colocación de dispositivos protésicos.

30 En la presente también se describe un método para inhibir la actividad de la syk quinasa de una muestra de sangre, que comprende poner en contacto dicha muestra con un compuesto de la presente invención.

En la presente también se describen compuestos en formas purificadas, así como compuestos intermedios químicos.

Estos aspectos, rasgos y ventajas, y otros, de la invención se pondrán en evidencia con referencia a la siguiente descripción detallada y figuras. A tal efecto, en la presente se consignan diversas referencias que describen con mayor detalle la información de antecedentes, procedimientos, compuestos y/o composiciones.

35 Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra cómo el Syk sirve como un mediador clave de la señalización mediada por el receptor de Fc en la biología celular y en múltiples enfermedades.

La **Figura 2** muestra cómo el direccionamiento al gen del Syk indicó que el Syk sirve como un mediador clave en la biología de las plaquetas arteriales y como un objetivo selectivo para tratar la trombosis arterial.

La **Figura 3** muestra una síntesis general de los compuestos de la presente invención.

Las **Figuras 4A, B y C** proveen las Tablas 2A, B y C que ilustran compuestos de la presente invención y CI_{50} de syk.

5 La **Figura 5** provee la Tabla 3 que ilustra compuestos de la presente invención y CI_{50} de syk.

La **Figura 6** provee la Tabla 4 que ilustra compuestos de la presente invención y CI_{50} de syk.

Las **Figuras 7A y 7 B** proveen las Tablas 5 A y B que ilustran compuestos de la presente invención y CI_{50} de syk.

La **Figura 9** muestra una serie de compuestos que fueron identificados por inhibir selectivamente el Syk en ensayos con quinasa purificada. Los compuestos de la **Figura 9A** (Ejemplo 596 y Ejemplo 87 y P420-89) fueron seleccionados a 300 nM con respecto al panel de quinasa purificada de Millipore (270 quinastas ensayadas con ATP 10 μ M) a efectos de determinar la potencia y selectividad con respecto al Syk. Los datos se han representado como un heat-map, definido en la parte inferior de la **Figura 9B**. El subconjunto de las quinastas purificadas que tenía >80% de inhibición mediante cualquiera de los tres compuestos, ejemplo 596 solamente inhibió el Syk y MLK1, ejemplo 87 a 50nM (~10x mayor que su CI_{50} de Syk) sólo inhibió el Syk. El P420-89 inhibió múltiples quinastas, que incluyen Syk, JAK2 y JAK3. La CI_{50} de la inhibición del Syk para cada compuesto ha sido indicada a la izquierda del heat map. En cada panel en el heat-map se indica la inhibición porcentual de la quinasa.

La **Figura 10** muestra la inhibición selectiva del Syk en cepas de células de linfoma no de Hodgkin. Se estimularon células B con anticuerpo anti-BCR en la presencia de las concentraciones indicadas de inhibidores específicos de Syk en los Ejemplos 596 y 87 (**Figura 10A y Figura 10B**) o el inhibidor dual de Syk/JAK, P420-89 (**Figura 10C**). Seguidamente se llevaron a cabo los análisis de transferencia Western de lisados de células enteras para evaluar la actividad de la Syk quinasa (pBLNK Y84 y BLNK total; dos geles superiores) y de la actividad de la Src quinasa (pSyk Y352 y Syk total; dos geles inferiores). Se llevaron a cabo experimentos 2-3 veces para cada uno, los gráficos de barra representan media \pm S.D. de pBLNK Y84. Las CI_{50} calculadas de inhibición de Syk quinasa se han representado arriba de los gráficos.

La **Figura 11** provee una comparación de la inhibición específica de SYK y dual de Syk/JAK en cepas de células NHL. Se estimularon células B con anti-BCR (**Figura 11A**), o IL-4 (**Figura 11B**) durante 15 min en la presencia de diversas concentraciones de cada inhibidor, como se indica. Seguidamente se evaluaron las células para establecer la inhibición de las trayectorias de señalización mediante citometría de fosfo-flujo. **Figura 11A** los gráficos de barra (media \pm S.D., n=3) representan la actividad de Src (pSyk Y352 MFI) y la actividad de Syk (pERK Y204 MFI) después de la estimulación por BCR bajo las diversas condiciones de tratamiento. **Figura 11B** los gráficos de barra ilustran pSTAT-6 Y641 MFI (media \pm S.D., n=3) después de estimulación con IL-4 en la presencia de diversas concentraciones de cada inhibidor, como se indica.

La **Figura 12** muestra cómo los inhibidores específicos de SYK anulan la proliferación y supervivencia de, e inducen la apoptosis en cepas de células de NHL. Las líneas celulares NHL dependiente de SYK "de tipo BCR" e independiente de SYK "no de tipo BCR" han sido descritas en lo que precede (Polo, Juszczynski et al. Proc Natl Acad Sci U S A 104(9): 3207-12 (2007). **Figura 12A**). Las células fueron tratadas durante 72h con 1 y 3 μ M del inhibidor específico de SYK del Ejemplo 87. Se determinó la apoptosis mediante análisis FACS de caspasa 3 activa; los datos se representan como histogramas. **Figura 12B**). Se ensayaron cepas de células adicionales para establecer su sensibilidad a la inhibición específica de Syk (ejemplo 596 y ejemplo 87) frente a la dual de Syk/JAK (P420-89). Los gráficos de barra representan media \pm S.D. (n=3) del porcentaje de células caspasa 3 positivas según cada condición.

La **Figura 13** muestra cómo la inhibición selectiva del Syk impide la activación inducida por BCR de las células B primarias de ratón. La **Figura 13** provee una comparación entre la inhibición de específica de SYK y la inhibición dual de Syk/JAK en cepas de células. Se estimularon células B con anti-BCR (**Figura 13C**) durante 15 min en la presencia de diversas concentraciones de cada inhibidor, como se indica. Seguidamente se evaluaron las células para establecer la inhibición de las trayectorias de señalización mediante citometría de fosfo-flujo. **Figura 13C**). Representaciones gráficas de citometría de flujo (media \pm S.D., n=3) que representan la actividad de Src (pSyk Y352 MFI) y la actividad de Syk (pERK Y204 MFI) después de estimulación por BCR bajo las diversas condiciones de tratamiento.

La **Figura 14** muestra la eficacia en un modelo de artritis en ratón mediante la inhibición específica de Syk

La **Figura 15** muestra cómo la histopatología en un modelo de ratón confirma el puntaje clínico para un inhibidor específico de Syk.

La **Figura 16** muestra el efecto dosis dependiente de la inhibición de Syk/JAK en un modelo de artritis de ratón.

La **Figura 17** provee un modelo de inmunotrombocitopenia de ratón.

La **Figura 18** muestra cómo la inhibición del Syk impide la formación de tumores de NHL en un modelo de ratón con xenoinjerto de una cepa de células de NHL. El ejemplo 87 de inhibidor selectivo de Syk impide la formación de tumores en ratones que recibieron xenoinjertos. Los ratones recibieron dosis diarias de 10, 15, ó 20 mg/kg de ejemplo 87 o de vehículo de control, a partir el día de la inoculación de las células tumorales. A): se determinaron los pesos de los tumores a las 4 semanas post-inoculación para cada condición de tratamiento. Las diferencias estadísticas con respecto al vehículo utilizado como control se ilustran como valores P dentro del gráfico. B) Los gráficos de barras representan recuentos celulares normales (media \pm S.D., n= 13 a 15) de ratones tratados con cada concentración del ejemplo 87 o vehículo control.

Descripción detallada de la invención

Tal como se usa en la presente, los términos de abajo tienen los siguientes significados, a menos que se especifique otra cosa:

1. Abreviaturas y definiciones

Las abreviaturas usadas en la presente son convencionales, a menos que se defina de otra manera. Se usan las siguientes abreviaturas: AcOH = ácido acético, AIBN = azobisisobutironitril (también azobisisobutilonitrilo), ac. = acuoso, Boc = t-butilcarboxi, Bz - bencilo, BOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)-fosfonio, BPO = peróxido de benzoílo, nBuOH = n-butanol, CBr₄ = tetrabromometano, mCPBA = ácido m-cloroperoxibenzoico, CH₂Cl₂ o DCM = diclorometano, Cs₂CO₃ = carbonato de cesio, CuCl₂ = cloruro de cobre; DPPA = difenilfosforilazida; DIBAL = hidruro de diisobutilaluminio, DIEA = base de Hunig o diisopropiletilamina, DME = éter dimetílico, DMF = dimetilformamida, DMSO = dimetilsulfóxido, Et₃N = trietilamina, EtOAc = acetato de etilo, g = gramo, HATU = 2-hexafluorofosfato de (1H-7-Azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, H₂ = hidrógeno; H₂O = agua; HBr = bromuro de hidrógeno; HCl = cloruro de hidrógeno, VIH = virus de inmunodeficiencia humana, HPLC = cromatografía líquida a alta presión, h = hora, IgE = inmunoglobulina E, Cl₅₀ = la concentración de un inhibidor que se requiere para el 50% de inhibición de una enzima in vitro, IPA = alcohol isopropílico, kg = kilogramo, KCN = cianuro de potasio, KOH = hidróxido de potasio, K₂PO₄ = fosfato de potasio, LDA = diisopropilamina de litio, LiAlH₄ = hidruro de litio y aluminio = LiOH: hidróxido de litio; MeCN = acetonitrilo; MS = espec. de masa, m/z = relación de masa a carga, MHz = megahercio, MeOH = metanol, μ M = micromolar, μ L = microlitro, mg = miligramo, mm = milímetro, mM = milimolar, mmol = milimol, mL = mililitro, mOD/min = unidades de densidad milioptica por minuto, min = minuto, M = molar, Na₂CO₃ = carbonato de sodio, ng = nanogramo, NaHCO₃ = bicarbonato de sodio; NaNO₂ = nitrito de sodio; NaOH = hidróxido de sodio; Na₂S₂O₃ = bisulfato de sodio; Na₂SO₄ = sulfato de sodio; NBS = N-bromosuccinamida; NH₄Cl = cloruro de amonio; NH₄OAc = acetato de amonio; NaSMe = metiltiolato de sodio, NBS = N-bromosuccinamida, n-BuLi = n-butillitio, nm = nanómetro, nM = nanomolar, N = normal, NMP = N-metilpirrolidina, RMN = resonancia magnética nuclear, Pd/C = paladio sobre carbón, Pd(PPh₃)₄ = Tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio, pM = picomolar, Pin = pinacolato, PEG = polietilenglicol, PPh₃ o Ph₃P = trifenilfosfina, RLV = virus de leucemia de Raucher, Ra-Ni = níquel Rainey, SOCl₂ = cloruro de tionilo, TA = temperatura ambiente, TEA = trietilamina, THF = tetrahidrofurano, TFA = ácido trifluoroacético, TLC = cromatografía líquida en capa fina, TMS = trimetilsililo, Tf = trifluorometilsulfonilo y TSC = citrato trisódico.

Se nota aquí que, como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” incluyen la referencia plural, a menos que el contexto claramente dictamine otra cosa.

“Alquilo” en sí o como parte de otro sustituyente, implica, a menos que se establezca otra cosa, un radical hidrocarbonado alifático completamente saturado de cadena lineal o ramificada que tiene la cantidad de átomos de carbono designada. Por ejemplo, “alquilo C₁₋₈” se refiere a un radical hidrocarbonado lineal o ramificado con 1 a 8 átomos de carbono que se deriva por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono simple de un alcano principal. La frase “alquilo no sustituido” se refiere a grupos alquilo que no contienen grupos distintos de radicales hidrocarbonados alifáticos completamente saturados. Así, la frase incluye grupos alquilo de cadena lineal tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, y similares. La frase también incluye isómeros de cadena ramificada de grupos alquilo de cadena lineal tales como isopropilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, y similares. Los grupos alquilo representativos incluyen grupos alquilo de cadena lineal y ramificada que tienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 átomos de carbono. Otros grupos alquilo representativos incluyen grupos alquilo de cadena lineal y ramificada que tienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono.

“Alquenilo” en sí o como parte de otro sustituyente se refiere a una cadena lineal o ramificada, que puede ser mono o poliinsaturada, que tiene la cantidad de átomos de carbono designada. Por ejemplo, “alquenilo C₂-C₈” implica un radical alquenilo que tiene de 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos que se deriva por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono simple de un alcano principal. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, vinilo, 2-propenilo, es decir -CH=C(H)(CH₃), -CH=C(CH₃)₂, -C(CH₃)=C(H)₂, -C(CH₃)=C(H)(CH₃), -C(CH₂CH₃)=CH₂, butadienil por ejemplo 2-(butadienilo), pentadienilo, por ejemplo 2,4-pentadienilo y 3-(1,4-pentadienilo) y hexadienilo, entre otros, y homólogos y estereoisómeros superiores de ellos. Un grupo alquenilo “sustituido” incluye grupos alquenilo en donde un átomo no carbono o no hidrógeno está unido con un carbono doble unido con otro carbono y aquellos en los que un átomo no carbono o no hidrógeno está unido a un carbono no implicado en un enlace doble con otro carbono. Cada sitio de instauración puede tener configuración cis o trans respecto de los enlaces dobles.

El término “alquinilo”, en sí o como parte de otro sustituyente, implica un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada, que puede ser mono o poliinsaturada, que tiene la cantidad de átomos de carbono designada. Por ejemplo, “alquinilo C₂-C₈” implica un radical alquinilo que tiene de 2 a 8 átomos de carbono que se deriva por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono simple de un alcano principal. “Alquinilo no sustituido” se refiere a grupos de cadena lineal y ramificada tales como los descritos respecto a grupos alquilo no sustituidos tal como se definió con anterioridad, excepto en que se usó al menos un enlace triple que existe entre dos átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, etinilo, por ejemplo -C≡C(H), 1-propinilo, por ejemplo, -C≡C(CH₃), -C≡C(CH₂CH₃), -C(H)₂C≡C(H), -C(H)₂C≡C(CH₃) y -C(H)₂C≡C(CH₂CH₃) entre otros y homólogos e isómeros superiores de ellos. Un grupo alquinilo “sustituido” incluye grupos alquinilo en donde un átomo no carbono o no hidrógeno está unido con un carbono triple unido con otro carbono y aquellos en los que un átomo no carbono o no hidrógeno está unido con un carbono no implicado en un enlace triple con otro carbono.

“Alquileo” en sí o como parte de otro sustituyente implica un radical divalente derivado de un alcano, tal como se ejemplifica con -CH₂CH₂CH₂CH₂-. Típicamente, un grupo alquileo tendrá de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono que se deriva por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono simple de un alquilo principal.

“Cicloalquilo” o “carbociclo”, en sí o en combinación con otros términos, a menos que se establezca otra cosa, implica versiones cíclicas de “alquilo”, “alquenilo” y “alquinilo”, en donde todos los átomos del anillo son carbono. “Cicloalquilo” o “carbociclo” se refiere a un grupo mono o policíclico. Cuando se usa en conexión con sustituyentes de cicloalquilo, el término “policíclico” se refiere en la presente a estructuras cíclicas de alquilo fusionadas y no fusionadas. “Cicloalquilo” o “carbociclo” puede formar un anillo en puente o un anillo espiro. El grupo cicloalquilo puede tener uno o varios enlaces dobles o triples. El término “cicloalquenilo” se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene al menos un sitio de instauración de alquenilo entre los vértices del anillo. El término “cicloalquinilo” se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene al menos un sitio de instauración de alquenilo entre los vértices del anillo. Cuando se usa “cicloalquilo” en combinación con “alquilo”, como en cicloalquil C₃₋₈-alquileo C₃₋₈, la porción de cicloalquilo tiene la cantidad establecida de átomos de carbono (por ejemplo, de 3 a 8 átomos de carbono), mientras que la porción de alquileo tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los sustituyentes de cicloalquilo típicos tienen de 3 a 8 átomos del anillo. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo, y similares.

“Ariolo” en sí o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático poliinsaturado con 6 a 14 átomos de carbono, que puede ser un anillo simple o múltiples anillos (hasta tres anillos) que están fusionados entre sí o ligados covalentemente. Así, la frase incluye, pero sin limitación, grupos tales como fenilo, bifenilo, antraceno, naftilo, a modo de ejemplo. Los ejemplos no limitativos de grupos ariolo no sustituidos incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo y 4-bifenilo. El “grupo ariolo sustituido” incluye, por ejemplo, -CH₂OH (un átomo de carbono y un heteroátomo que reemplaza un átomo de carbono) y -CH₂SH. El término “heteroalquileo” en sí o como parte de otro sustituyente implica un radical divalente derivado de heteroalquilo, tal como se ejemplifica con -CH₂-CH₂-S-CH₂CH₂- y -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-. Para grupos heteroalquileo, los heteroátomos también pueden ocupar uno o ambos términos de la cadena (por ejemplo, alquilenoxi, alquilendioxi, alquilenamino, alquilendiamino, y similares). Además, para los grupos de unión alquileo y heteroalquileo, no está implicada ninguna orientación del grupo de unión.

Los términos “heterociclo”, “heterociclilo” o “heterocíclico” se refieren a un grupo cíclico no aromático saturado o insaturado con al menos un heteroátomo. Tal como se usa en la presente, el término “heteroátomo” incluye oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si). Cada heterociclo puede estar unido a cualquier carbono de anillo o heteroátomo disponibles. Cada heterociclo puede tener uno o varios anillos. Cuando están presentes múltiples anillos, pueden estar fusionados entre sí o unidos covalentemente. Cada heterociclo contiene típicamente 1, 2, 3, 4 ó 5 heteroátomos seleccionados de modo independiente. Con preferencia, estos grupos contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 átomos de carbono, 0, 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de nitrógeno, 0, 1 ó 2 átomos de azufre y 0, 1 ó 2 átomos de oxígeno. Con mayor preferencia, estos grupos contienen 1, 2 ó 3 átomos de nitrógeno, 0-1 átomos de azufre y 0-1 átomos de oxígeno. Los

ejemplos no limitativos de grupos heterociclo incluyen morfolin-3-ona, piperazin-2-ona, piperazin-1-óxido, piridin-2-ona, piperidina, morfolina, piperazina, isoxazolina, pirazolina, imidazolina, pirazo-5-ona, pirrolidin-2,5-diona, imidazolidin-2,4-diona, pirrolidina, tetrahydroquinolinilo, decahydroquinolinilo, tetrahydrobenzooxazepinilo, dihidrodibenzooxepina, y similares.

5 “Heteroarilo” se refiere a un radical aromático cíclico o policíclico que contiene de uno a cinco heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados y los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Un grupo heteroarilo puede estar unido al resto de la molécula a través de un heteroátomo o a través de un átomo de carbono y puede contener 5 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos no limitativos de grupos heteroarilo incluyen 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 1-pirazolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-
10 imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo y 4-pirimidilo. Si no se establece específicamente, los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos arilo y heteroarilo observados están seleccionados del grupo de sustituyentes aceptables descritos en la presente. “Heteroarilo sustituido” se refiere a un grupo heteroarilo no sustituido tal como se definió con anterioridad en donde uno o varios de los miembros del anillo está
15 unido a un átomo no hidrógeno tal como se describió con anterioridad respecto a los grupos alquilo sustituidos y grupos arilo sustituidos. Los sustituyentes representativos incluyen grupos alquilo de cadena lineal y ramificada -CH₃, -C₂H₅, -CH₂OH, -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OCF₃, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)NH₂, .OC(=O)N(CH₃)₂, .CN, -NO₂, -C(=O)CH₃, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CONH₂, -NH₂, -N(CH₃)₂, -NHSO₂CH₃, -NHCOCH₃, -NHC(=O)OCH₃, -NHSO₂CH₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂ y halo.

20 “Heteroarilo bicíclico” se refiere a un radical aromático bicíclico que contiene de uno a cinco heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados y los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Un grupo heteroarilo bicíclico puede estar unido al resto de la molécula a través de un heteroátomo o a través de un átomo de carbono y puede contener 5 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos no limitativos de grupos heteroarilo bicíclicos incluyen 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, benzopirazolilo, 5-
25 indolilo, azaindole, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo y 6-quinolilo. Si no se establece específicamente, los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos arilo y heteroarilo establecidos con anterioridad están seleccionados del grupo de sustituyentes aceptables descritos en la presente.

Arilheteroarilo” o “arilheteroarilo” se refiere a un radical en donde un resto de heteroarilo está unido a un resto de arilo de una manera no fusionada. El grupo arilo está unido con el resto de la molécula a través de un átomo de carbono y puede contener de 5 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos no limitativos de arilo y grupos heteroarilo se describen con anterioridad. El término “fenilheteroarilo” o “fenilheteroarilo” se refiere a un resto de heteroarilo unido al resto de fenilo que está unido con el resto de la molécula.

35 Arilheterociclilo” o “arilheterociclilo” se refiere a un radical en donde un resto de heterociclilo está unido con un resto de arilo de una manera no fusionada. El grupo arilo está unido con el resto de la molécula a través de un átomo de carbono y puede contener de 5 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos no limitativos de arilo y los grupos heterociclilo se describen con anterioridad. El término “fenilheterociclilo” o “fenilheterociclilo” se refiere a un resto de heteroarilo unido al resto de fenilo que está unido con el resto de la molécula.

En cada una de las formas de realización anteriores que designan una cantidad de átomos, por ejemplo, “C₁₋₈”, incluyen todas las formas de realización posibles que tiene un átomo inferior. Los ejemplos no limitativos incluyen C₁₋₇, C₂₋₈, C₂₋₇, C₃₋₈, C₃₋₇, y similares.

40 Cada uno de los términos en la presente (por ejemplo, “alquilo”, “heteroalquilo”, “arilo” y “heteroarilo”) incluye las formas tanto “no sustituidas” como las opcionalmente “sustituidas” del radical indicado, a menos que se indique de otro modo. Típicamente cada radical está sustituido con 0, 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, a menos que se indique de otro modo. Los ejemplos de sustituyentes para cada tipo de radical se proveen más abajo.

45 “Sustituido” se refiere a un grupo tal como se define en la presente en donde uno o varios enlaces con un carbono o hidrógeno están reemplazados por un enlace con un átomo no hidrógeno y no carbono “sustituyentes” tales como, pero sin limitación, un átomo de halógeno tales como F, Cl, Br y I; un átomo de oxígeno en grupos tales como grupos hidroxilo, grupos alcoxi, grupos ariloxi y grupos aciloxi; un átomo de azufre en grupos tales como grupos tiol, grupos sulfuro de alquilo y de arilo, grupos sulfona, grupos sulfonilo y grupos sulfóxido; un átomo de nitrógeno en grupos tales como amino, alquilaminas, dialquilaminas, arilaminas, alquilarilaminas, diarilaminas, alcóxiamino, hidroxiamino, acilamino, sulfonilamino, N-óxidos, imidas y enaminas; y otros heteroátomos en diversos otros grupos. “Sustituyentes” también incluyen grupos en donde uno o varios enlaces con un átomo de carbono o hidrógeno está reemplazado por un enlace de orden superior (por ejemplo, un enlace doble o triple) con un heteroátomo tales como oxígeno en grupos oxo, acilo, amido, alcóxicarbonilo, aminocarbonilo, carboxilo y éster; nitrógeno en grupos tales como iminas, oximas,
50

hidrazonas y nitrilos. Los "sustituyentes" también incluyen grupos en donde uno o varios enlaces con átomos de carbono o de hidrógeno están reemplazados por un enlace con un grupo cicloalquilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo. Los "sustituyentes" representativos incluyen, entre otros, grupos en los que uno o varios enlaces con un átomo de carbono o de hidrógeno están reemplazados por uno o varios enlaces con grupo flúor, cloro o bromo. Otro "sustituyente" representativo es el grupo trifluorometilo y otros grupos que contienen el grupo trifluorometilo. Otros "sustituyentes" representativos incluyen aquellos en los que uno o varios enlaces con un átomo de carbono o hidrógeno están reemplazados por un enlace con un átomo de oxígeno de modo que el grupo alquilo sustituido contenga un grupo hidroxilo, alcoxi o ariloxi. Otros "sustituyentes" representativos incluyen grupos alquilo que tienen un grupo amina o un grupo alquilamina, dialquilamina, arilamina, (alquil)(aril)amina, diarilamina, heterocicilamina, diheterocicilamina, (alquil)(heterocicil)amina o (aril)(heterocicil)amina sustituido o no sustituido. Otros "sustituyentes" representativos incluyen aquellos en los que uno o varios enlaces con átomos de carbono o hidrógeno están reemplazados por un enlace con un grupo alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo.

Los grupos definidos en la presente pueden incluir prefijos y/o sufijos que se usan comúnmente en la técnica para crear grupos sustituyentes adicionales bien reconocidos. Como ejemplos, "alquilamino" se refiere a un grupo de la fórmula $-NR^aR^b$. A menos que se establezca de otro modo, para los siguientes grupos con R^a , R^b , R^c , R^d y R^e : R^a y R^b están seleccionados cada uno, de modo independiente, de H, alquilo, alcoxi, tioalcoxi, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo o se unen opcionalmente con los átomos a los que están unidos para formar un grupo cíclico. Cuando R^a y R^b se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 5, 6 ó 7 miembros. Por ejemplo, $-NR^aR^b$ incluye 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo.

R^c , R^d , R^e y R^f están seleccionados cada uno, de modo independiente, de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo, heterociclilo o alquilenarilo, tal como se define en la presente.

Típicamente, un radical particular tendrá 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes, con aquellos grupos que tienen dos o menos sustituyentes preferidos en la presente invención. Con mayor preferencia, un radical será no sustituido o será monosustituido. Con máxima preferencia, un radical no será sustituido.

"Sustituyentes" para los radicales alquilo y heteroalquilo (así como aquellos grupos mencionados como alqueno, alqueno, heteroalqueno, heteroalqueno, alquino, cicloalquilo, heterociclilo) pueden ser una variedad de grupos seleccionados de: $-OR^a$, $=O$, $=NR^a$, $=N-OR^a$, $-NR^aR^b$, $-SR^a$, halógeno, $-SiR^aR^bR^c$, $-OC(O)R^a$, $-C(O)R^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-OC(O)NR^aR^b$, $-NR^bC(O)R^a$, $-NR^a-C(O)NR^bR^c$, $-NR^a-SO_2NR^bR^c$, $-NR^bCO_2R^a$, $-NH-C(NH_2)=NH$, $-NR^aC(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR^a$, $-S(O)R^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, $-NR^bSO_2R^a$, $-CN$ y $-NO_2$, en una cantidad de va de cero a tres, con aquellos grupos que tienen cero, uno o dos sustituyentes preferidos en particular.

En algunas formas de realización, "sustituyentes" para los radicales alquilo y heteroalquilo están seleccionados de: $-OR^a$, $=O$, $-NR^aR^b$, $-SR^a$, halógeno, $-SiR^aR^bR^c$, $-OC(O)R^a$, $-C(O)R^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-OC(O)NR^aR^b$, $-NR^bC(O)R^a$, $-NR^bCO_2R^a$, $-NR^a-SO_2NR^bR^c$, $-S(O)R^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, $-NR^cSO_2R^a$, $-CN$ y $-NO_2$, en donde R^a y R^b son tal como se definieron con anterioridad. En algunas formas de realización, los sustituyentes están seleccionados de: $-OR^a$, $=O$, $-NR^aR^b$, halógeno, $-OC(O)R^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-OC(O)NR^aR^b$, $-NR^bC(O)R^a$, $-NR^bCO_2R^a$, $-NR^a-SO_2NR^bR^c$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, $-NR^cSO_2R^a$, $-CN$ y $-NO_2$.

Los ejemplos de alquilo sustituido son: $-(CH_2)_3NH_2$, $-(CH_2)_3NH(CH_3)$, $-(CH_2)_3NH(CH_3)_2$, $-CH_2C(=CH_2)CH_2NH_2$, $-CH_2C(=O)CH_2NH_2$, $-CH_2S(=O)_2CH_3$, $-CH_2OCH_2NH_2$, $-CO_2H$. Los ejemplos de sustituyentes de alquilo sustituido son: CH_2OH , $-OH$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-OCF_3$, $-OC(=O)CH_3$, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-C(=O)CH_3$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CONH_2$, $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$, $-NHSO_2CH_3$, $-NHCOCH_3$, $-NHC(=O)OCH_3$, $-NHSO_2CH_3$, $-SO_2CH_3$, $-SO_2NH_2$ y halo.

De modo similar, los "sustituyentes" de los grupos arilo y grupos heteroarilo son variados y están seleccionados de: halógeno, $-OR^a$, $-OC(O)R^a$, $-NR^aR^b$, $-SR^a$, $-R^a$, $-CN$, $-NO_2$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-C(O)R^a$, $-OC(O)NR^aR^b$, $-NR^bC(O)R^a$, $-NR^bC(O)_2R^a$, $-NR^a-C(O)NR^bR^c$, $-NH-C(NH_2)=NH$, $-NR^aC(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR^a$, $-S(O)R^a$, $-S(O)_2R^a$, $-S(O)_2NR^aR^b$, $-N_3$, $-CH(Ph)_2$, perfluoroalcoxi C_{1-8} y perfluoroalquilo C_{1-8} , en una cantidad que va de cero a la cantidad total de valencias abiertas en el sistema de anillos aromáticos; y en donde R^a , R^b y R^c están seleccionados, de modo independiente, de hidrógeno, alquilo C_{1-6} y heteroalquilo, arilo no sustituido y heteroarilo, (aril no sustituido)-alquilo C_{1-8} y (aril no sustituido)oxi-alquilo C_{1-8} .

Dos de los "sustituyentes" en átomos del anillo arilo o heteroarilo adyacentes pueden estar opcionalmente reemplazados por un sustituyente de la fórmula $-T-C(O)-(CH_2)_q-U$, en donde T y U son, de modo independiente, $-NH$, $-O$, $-CH_2$ o un enlace simple y q es 0, 1 ó 2. Alternativamente, dos de los sustituyentes en átomos del anillo arilo o heteroarilo

adyacente puede estar opcionalmente reemplazado por un sustituyente de la fórmula $-A-(CH_2)_r-B-$, en donde A y B son, de modo independiente, $-CH_2-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2NR^a-$ o un enlace simple y r es 1, 2 ó 3. Uno de los enlaces simples del nuevo anillo así formado puede estar opcionalmente reemplazado por un enlace doble. Alternativamente, dos de los sustituyentes en átomos del anillo arilo o heteroarilo adyacentes pueden estar opcionalmente reemplazados por un sustituyente de la fórmula $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$, en donde s y t son, de modo independiente, números enteros de 0 a 3 y X es $-O-$, $-NR^a-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$ o $-S(O)_2NR^a-$. El sustituyente R^a en $-NR^a-$ y $-S(O)_2NR^a-$ está seleccionado de hidrógeno o alquilo C_{1-6} no sustituido. De otro modo, R' es tal como se definió con anterioridad.

10 A menos que se indique otra cosa, la nomenclatura de sustituyentes que no se definen explícitamente en la presente se logra al denominar la porción terminal de la funcionalidad seguida por la funcionalidad adyacente hacia el punto de unión. Por ejemplo, el sustituyente "arilalquilocarbonilo" se refiere al grupo (aril)-(alquil)-O-C(O)-.

El término "acilo" se refiere al grupo $-C(=O)R^c$ en donde R^c es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo o heterociclilo. Acilo incluye el grupo "acetilo" $-C(=O)CH_3$.

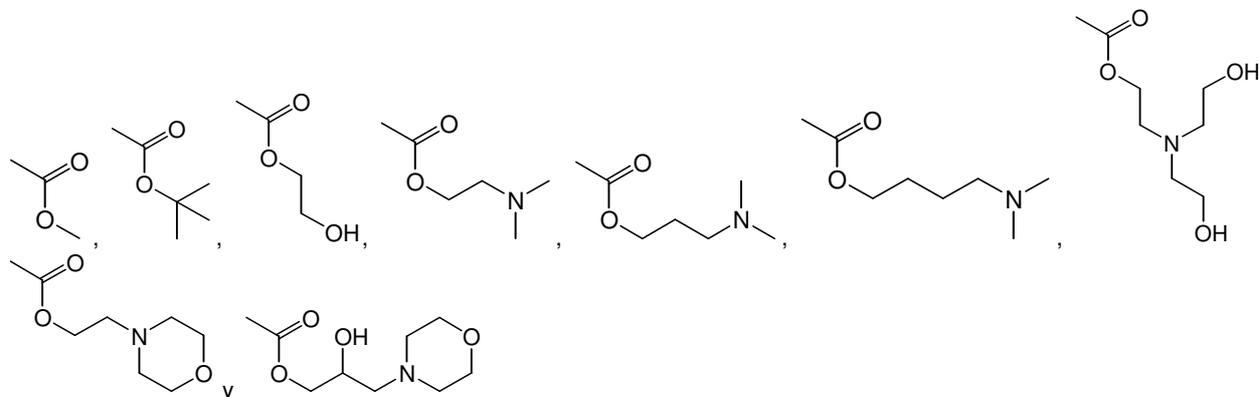
15 "Acilamino" se refiere al grupo $-NR^aC(=O)R^c$ en donde R^c es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo o heterociclilo.

"Aciloxi" se refiere a $-OC(=O)-R^c$ en donde R^c es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo o heterociclilo.

"Alcoxi" se refiere a $-OR^d$ en donde R^d es alquilo tal como se define en la presente. Los ejemplos representativos de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, t-butoxi, trifluorometoxi, y similares.

20 "Alcoxiamino" se refiere al grupo $-NHOR^d$ en donde R^d es alquilo.

"Alcoxycarbonilo" se refiere a $-C(=O)OR^d$ en donde R^d es alquilo. Los grupos alcoxycarbonilo representativos incluyen, por ejemplo, los que se muestran a continuación.



25 Estos grupos alcoxycarbonilo pueden estar también sustituidos tal como será obvio para los expertos en las técnicas de química orgánica y medicinal junto con la descripción en la presente.

"Alcoxycarbonilamino" se refiere a $-NR^aC(=O)OR^d$ en donde R^d es alquilo.

"Alcoxisulfonilamino" se refiere al grupo $-NR^aS(=O)_2-OR^d$ en donde R^d es alquilo.

"Alquilcarbonilo" se refiere al grupo $-C(=O)R^c$ en donde R^c es alquilo.

30 "Alquilcarboniloxi" se refiere a $-OC(=O)-R^c$ en donde R^c es alquilo.

"Alquilcarbonilamino" se refiere a $-NR^8C(=O)R^c$ en donde R^c es alquilo. Los grupos alquilcarbonilamino representativos incluyen, por ejemplo, $-NHC(=O)CH_3$, $-NHC(=O)CH_2CH_3$, $-NHC(=O)CH_2NH(CH_3)$, $-NHC(=O)CH_2N(CH_3)_2$ o $-NHC(=O)(CH_2)_3OH$.

“Alquilsulfanilo”, “alquiltio” o “tioalcoxi” se refiere al grupo $S-R^d$, en donde R^d es alquilo.

“Alquilsulfonilo” se refiere a $-S(=O)_2R^e$ en donde R^e es alquilo. Los grupos alquilsulfonilo empleadps en compuestos de la presente invención son típicamente grupos alquil C_{1-6} -sulfonilo.

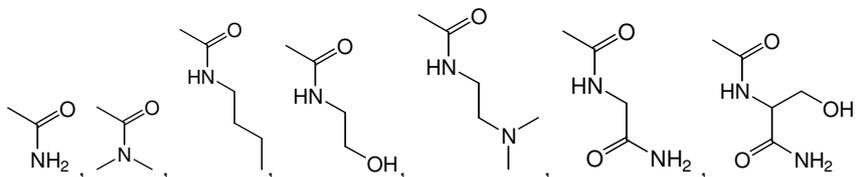
“Alquilsulfonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2-R^e$ en donde R^e es alquilo.

5 “Alquiniloxi” se refiere al grupo $-O$ -alqunilo, en donde alquinilo es tal como se define en la presente. Alquiniloxi incluye, a modo de ejemplo, etiniloxi, propiniloxi, y similares.

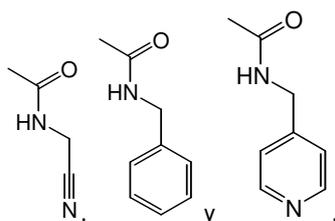
10 “Amidino” se refiere al grupo $-C(=NR^a)NR^bR^c$, en donde R^b y R^c están seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heterocíclico y en donde R^b y R^c se unen opcionalmente con el nitrógeno unido para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido. R^a está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquinilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heterocíclico, heterocíclico sustituido, nitro, nitroso, hidroxilo, alcoxi, ciano, $-N=N-N$ -alquilo, $-N$ (alquil) SO_2 -alquilo, $-N=N=N$ -alquilo, acilo y $-SO_2$ -alquilo.

15 “Amino” se refiere a un radical monovalente $-NR^aR^b$ o radical divalente $-NR^a$. El término “alquilamino” se refiere al grupo $-NR^aR^b$ en donde R^a es alquilo y R^b es H o alquilo. El término “arilamino” se refiere al grupo $-NR^aR^b$ en donde al menos un R^a o R^b es arilo. El término “(alquil)(aril)amino” se refiere al grupo $-NR^aR^b$ en donde R^a es alquilo y R^b es arilo. Adicionalmente, para los grupos dialquilamino, las porciones de alquilo puede ser iguales o diferentes y también se pueden combinar para formar un anillo de 3-7 miembros con el átomo de nitrógeno al que cada uno está unido. Conforme a ello, un grupo representado como $-NR^aR^b$ incluye piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo, azetidino, y similares.

20 “Aminocarbonilo” o “aminoacilo” se refiere a la amida $-C(=O)-NR^aR^b$. El término “alquilaminocarbonilo” se refiere en la presente al grupo $-C(=O)-NR^aR^b$ en donde R^a es alquilo y R^b es H o alquilo. El término “arilaminocarbonil” se refiere en la presente al grupo $-C(=O)-NR^aR^b$ en donde R^a o R^b es arilo. Los grupos aminocarbonilo representativos incluyen, por ejemplo, los mostrados a continuación. Esos grupos aminocarbonilo también pueden estar sustituidos tal como resultará evidente para los expertos en las técnicas de química orgánica y medicinal junto con la descripción en la presente.



25



30 “Aminocarbonilamino” se refiere al grupo $-NR^aC(O)NR^b$, en donde R^a es hidrógeno o alquilo y R^a y R^b están seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heterocíclico y en donde R^a y R^b se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido.

35 “Aminosulfonilo” se refiere a $-S(O)_2NR^aR^b$ en donde R está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquenilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido y en donde R^a y R^b se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y alquilo sustituido, alquenilo sustituido, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico y heterocíclico sustituido son tal como se definen en la presente.

“Aminosulfonilo” se refiere al grupo $-O-SO_2NR^aR^b$, en donde R^a y R^b están seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heteroarilo y heterocíclico; R^a y R^b se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido.

5 “Aminosulfonilamino” se refiere al grupo $-NR^a-SO_2NR^bR^c$, en donde R^a es hidrógeno o alquilo y R^b y R^c están seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico y heterocíclico sustituido y en donde R^b y R^c se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y en donde alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico y heterocíclico sustituido son tal como se definen en la presente.

15 “Aminotiocarbonilo” se refiere al grupo $-C(S)NR^aR^b$, en donde R^a y R^b están seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico y heterocíclico sustituido y en donde R^a y R^b se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y en donde alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico y heterocíclico sustituido son tal como se definen en la presente.

“Aminotiocarbonilamino” se refiere al grupo $-NR^aC(S)NR^bR^c$, en donde R^a es hidrógeno o alquilo y R^b y R^c se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a ellos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido.

“Arlcarbonilo” se refiere al grupo $-C(=O)R^c$ en donde R^c es arilo.

“Arlcarbonilamino” se refiere a $-NR^aC(=O)R^c$ en donde R^c es arilo.

25 “Arlcarbonilo” se refiere a $-OC(=O)R^c$ en donde R^c es arilo.

“Arlloxi” se refiere a $-OR^d$ en donde R^d es arilo. Los ejemplos representativos de grupos ariloxi incluyen fenoxi, naftoxi, y similares.

“Arlloxycarbonilo” se refiere a $-C(=O)OR^d$ en donde R^d es arilo.

“Arlloxycarbonilamino” se refiere a $-NR^aC(=O)OR^d$ en donde R^d es arilo.

30 “Arlsulfanilo”, “ariltio” o “tioariloxi” se refiere al grupo $S-R^d$ en donde R^d es arilo.

“Arlsulfonilo” se refiere a $-S(=O)_2R^e$ en donde R^e es arilo.

“Arlsulfonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2R^e$ en donde R^e es arilo.

“Arltío” se refiere al grupo $-S$ -arilo, en donde arilo es tal como se define en la presente. En otras formas de realización, el azufre puede estar oxidado en restos $-S(O)-$ o $-SO_2-$. El sulfóxido puede existir como uno o varios estereoisómeros.

35 “Azido” se refiere a $-N_3$.

“Enlace”, cuando se usa un elemento en un grupo de Markush, significa que el correspondiente grupo no existe y los grupos de ambos lados están unidos directamente.

“Carbonilo” se refiere al grupo divalente $-C(=O)-$.

“Carboxi” o “carboxilo” se refiere al grupo $-CO_2H$.

40 “Carboxiléster” o “carboxi éster” se refiere a los grupos $-C(=O)OR^c$.

“(Carboxiléster)amino” se refiere a los grupos $-NR^a-C(O)OR^c$, en donde R^a es alquilo o hidrógeno.

“(Carboxiléster)oxi” o “Carbonato éster” se refiere a los grupos $-O-C(=O)OR^c$.

- “Ciano” se refiere a -CN.
- “Cicloalcoxi” se refiere a -OR^d en donde R^d es cicloalquilo.
- “Cicloalcoxycarbonilo” se refiere a -C(=O)OR^d en donde R^d es cicloalquilo.
- “Cicloalcoxycarbonilamino” se refiere a -NR^aC(=O)OR^d en donde R^d es cicloalquilo.
- 5 “Cicloalquilalquileno” se refiere a un radical -R^XR^Y en donde R^X es un grupo alquileno y R^Y es un grupo cicloalquilo tal como se define en la presente, por ejemplo, ciclopropilmetilo, ciclohexenilpropilo, 3-ciclohexil-2-metilpropilo, y similares.
- “Cicloalquilcarbonilo” se refiere al grupo -C(=O)R^c en donde R^c es cicloalquilo.
- “Cicloalquilcarbonilamino” se refiere a -NR^aC(=O)R^c en donde R^c es cicloalquilo.
- “Cicloalquilcarboniloxi” se refiere a -OC(=O)-R^c en donde R^c es cicloalquilo.
- 10 “Cicloalquilsulfonilamino” se refiere a -NR^aS(=O)₂-R^e en donde R^e es cicloalquilo.
- “Cicloalquiltio” se refiere a -S-cicloalquilo. En otras formas de realización, el azufre puede estar oxidado en restos -S(O)- o -SO₂-. El sulfóxido puede existir como uno o varios estereoisómeros.
- “Cicloalquenilox” se refiere a -O-cicloalquenilo.
- “Cicloalqueniltio” se refiere a -S-cicloalquenilo. En otras formas de realización, el azufre se puede oxidar en restos de sulfinito o sulfonilo. El sulfóxido puede existir como uno o varios estereoisómeros.
- 15 “Ester” se refiere a -C(=O)OR^d en donde R^d es alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo.
- “Guanidino” se refiere al grupo -NHC(=NH)NH₂.
- “Halo” o “halógeno” en sí o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se establezca otra cosa, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Además, los términos tales como “haloalquilo” incluyen alquilo en donde uno o varios hidrógenos están sustituidos con átomos de halógeno que pueden ser iguales o diferentes, en una cantidad que va de uno al máximo número de halógenos permitidos, por ejemplo, para alquilo, (2m'+1), en donde m' es la cantidad total de átomos de carbono en el grupo alquilo. Por ejemplo, el término “haloalquilo C₁₋₈” incluye trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo, y similares. El término “perhaloalquilo” implica, a menos que se establezca otra cosa, alquilo sustituido con (2m'+1) átomos de halógeno, en donde m' es la cantidad total de átomos de carbono en el grupo alquilo. Por ejemplo, el término “perhaloalquilo C₁₋₈”, incluye trifluorometilo, pentacloroetilo, 1,1,1-trifluoro-2-bromo-2-cloroetilo, y similares. Además, el término “haloalcoxi” se refiere a un radical alcoxi sustituido con uno o varios átomos de halógeno.
- 20 “Heteroalquilo” implica un radical alquilo tal como se define en la presente con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados, de modo independiente, de ciano, -OR^w, -NR^XR^Y y -S(O)_nR^Z (en donde n es un número entero de 0 a 2), entendiéndose que el punto de unión del radical heteroalquilo es a través de un átomo de carbono del radical heteroalquilo. R^w es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, aralquilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, carboxamido o mono- o di-alquilcarbamoilo. R^X es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo o aralquilo. R^Y es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, aralquilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, carboxamido, mono- o di-alquilcarbamoilo o alquilsulfonilo. R^Z es hidrógeno (siempre que n sea 0), alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, aralquilo, amino, mono-alquilamino, di-alquilamino o hidroxialquilo. Los ejemplos representativos incluyen, por ejemplo, 2-hidroxietilo, 2,3-dihidroxipropilo, 2-metoxietilo, benciloximetilo, 2-cianoetilo y 2-metilsulfonil-etilo. Para cada uno de los anteriores, R^w, R^X, R^Y y R^Z pueden estar además sustituidos con amino, flúor, alquilamino, di-alquilamino, OH o alcoxi. Además, el prefijo que indica la cantidad de átomos de carbono (por ejemplo, C₁-C₁₀) se refiere a la cantidad total de átomos de carbono en la porción del grupo heteroalquilo excepto las porciones de ciano, -OR^w, -NR^XR^Y o -S(O)_nR^Z.
- 30 “Heteroarilcarbonilo” se refiere al grupo -C(=O)R^c en donde R^c es heteroarilo.
- “Heteroarilcarbonilamino” se refiere a -NR^aC(=O)R^c en donde R^c es heteroarilo.
- “Heteroarilcarboniloxi” se refiere a -OC(=O)-R^c en donde R^c es heteroarilo.
- 40

- “Heteroariloxi” se refiere a $-OR^d$ en donde R^d es heteroarilo.
- “Heteroariloxicarbonilo” se refiere a $-C(=O)OR^d$ en donde R^d es heteroarilo.
- “Heteroariloxicarbonilamino” se refiere a $-NR^aC(=O)OR^d$ en donde R^d es heteroarilo.
- “Heteroarilsulfonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2R^e$ en donde R^e es heteroarilo.
- 5 “Heteroarilitio” se refiere al grupo $-S$ -heteroarilo. En otras formas de realización, el azufre se puede oxidar en restos de $-S(O)$ - o $-SO_2$ -. El sulfóxido puede existir como uno o varios estereoisómeros.
- “Heterociclilalquilo” o “Cicloheteroalquil-alquilo” implica un radical $-R^XR^Y$ en donde R^X es un grupo alquileo y R^Y es un grupo heterociclilo tal como se define en la presente, por ejemplo, tetrahidropirán-2-ilmetilo, 4-(4-sustituido-fenil)piperazin-1-ilmetilo, 3-piperidiniletilo, y similares.
- 10 “Heterociclocarbonilamino” se refiere a $-NR^aC(=O)OR^d$ en donde R^d es heterociclilo.
- “Heterociclicarbonilo” se refiere a $-C(=O)R^c$ en donde R^c es heterociclilo.
- “Heterociclicarbonilamino” se refiere a $-NR^aC(=O)R^c$ en donde R^c es heterociclilo.
- “Heterociclicarboniloxi” se refiere a $-OC(=O)-R^c$ en donde R^c es heterociclilo.
- “Heterociclioxi” se refiere a $-OR^d$ en donde R^d es heterociclilo.
- 15 “Heterociclicarbonilo” se refiere a $-C(=O)OR^d$ en donde R^d es heterociclilo.
- “Heterociclicarbonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2R^e$ en donde R^e es heterociclilo.
- “Heterociclicarbonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2R^e$ en donde R^e es heterociclilo.
- “Heterocicliilitio” se refiere al grupo $-S$ -heterociclilo. En otras formas de realización, el azufre puede estar oxidado en restos de $-S(O)$ - o $-SO_2$ -. El sulfóxido puede existir como uno o varios estereoisómeros.
- 20 “Hidroxilo” o “hidroxilo” se refiere al grupo $-OH$.
- “Hidroxiamino” se refiere al grupo $-NHOH$.
- “Nitro” se refiere a $-NO_2$.
- “Nitroso” se refiere al grupo $-NO$.
- 25 Los términos “opcional” u “opcionalmente” tal como se usan a lo largo de la memoria descriptiva significan que el evento o circunstancia descrita más abajo puede ocurrir pero no necesariamente y que la descripción incluye instancias en las que el evento o circunstancia ocurren e instancias en las que no. Por ejemplo, “grupo heterociclo opcionalmente mono- o disustituido con un grupo alquilo implica que el alquilo puede estar presente pero no necesariamente y la descripción incluye situaciones en las que el grupo heterociclo es mono- o disustituido con un grupo alquilo y situaciones en las que el grupo heterociclo no está sustituido con el grupo alquilo.
- 30 “Opcionalmente sustituido” significa un anillo que está opcionalmente sustituido de modo independiente con sustituyentes. Un sitio de un grupo que no está sustituido puede estar sustituido con hidrógeno.
- “Oxo” se refiere al grupo divalente $=O$.
- “Sulfanilo” se refiere al grupo $-SR^f$ en donde R^f es tal como se define en la presente.
- “Sulfinilo” se refiere al grupo $-S(=O)-R^e$ en donde R^e es tal como se define en la presente.
- 35 “Ácido sulfónico” se refiere al grupo $-S(O)_2-OH$.
- “Sulfonilo” se refiere al grupo $-S(O)_2-R^e$ en donde R^e es tal como se define en la presente.
- “Sulfonilamino” se refiere a $-NR^aS(=O)_2R^e$ en donde R^a está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heteroarilo y heterociclilo y R^e es tal como se define en la presente.

“Sulfonilo” se refiere al grupo $-\text{OSO}_2\text{-R}^c$.

Los compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en la naturaleza o secuencia de la ligación de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio reciben la denominación de “isómeros”. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio reciben la denominación de “estereoisómeros”. Los términos “estereoisómero” y “estereoisómeros” se refieren a compuestos que existen en diferentes formas estereoisoméricas si tienen uno o más centros asimétricos o un doble enlace con sustitución asimétrica y, por ello pueden producirse como estereoisómeros individuales o como mezclas. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereómeros. Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí reciben la denominación de “diastereómeros” y aquellos que son imágenes especulares no-superponibles entre sí reciben la denominación de “enantiómeros”. Si un compuesto tiene un centro asimétrico, por ejemplo, si está ligado a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede caracterizarse por la configuración absoluta de su centro asimétrico, y se describe de acuerdo con las reglas de secuenciación de Cahn y Prelog, o mediante la manera en que la molécula hace rotar el plano de la luz polarizada y se designa como dextrógiro o levógiro (es decir, como isómeros (+) o (-), respectivamente). Un compuesto quiral puede existir sea como enantiómero individual o como una mezcla del mismo. Una mezcla que contiene iguales proporciones de los enantiómeros lleva la designación de “mezcla racémica”. A menos que se indique otra cosa, la descripción tiene por objeto incluir tanto los estereoisómeros individuales así como las mezclas. Los métodos para la determinación de la estereoquímica y la separación de los estereoisómeros son bien conocidos en la especialidad (véase la discusión en el Capítulo 4 de *ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY*, 4ª edición J. March, John Wiley and Sons, Nueva York, 1992) y difieren en la quiralidad de uno o más estereocentros.

“Tioacilo” se refiere a los grupos $\text{R}^a\text{-C(S)-}$.

“Tiol” se refiere al grupo $-\text{SH}$.

“Tautómero” se refiere a formas alternativas de una molécula que difieren en la posición de un protón, tales como los tautómeros enol-ceto e imina-enamina, o las formas tautoméricas de grupos heteroarilo que contienen una disposición de átomos $-\text{N}=\text{C}(\text{H})-\text{NH}-$, tales como pirazoles, imidazoles, bencimidazoles, triazoles y tetrazoles. Un experto en la técnica reconocería que son posibles otras disposiciones de átomos anulares tautoméricos.

Se da por entendido que en todos los grupos sustituidos arriba definidos, los polímeros a los que se llega definiendo sustituyentes con otros sustituyentes a sí mismos (por ejemplo, arilo sustituido que tiene un grupo arilo sustituido que a su vez está sustituido con un grupo arilo sustituido, etc.) no están destinados a quedar incluidos en la presente. En tales casos, el número máximo de tales sustituciones es de tres. Por ejemplo, las sustituciones en serie de grupos arilo sustituidos están limitadas a -arilo sustituido-(arilo sustituido)-arilo sustituido.

La expresión “grupo protector” se refiere a un grupo de átomos que, cuando están fijados a un grupo funcional reactivo en una molécula, enmascaran, reducen o impiden la reactividad del grupo funcional. Típicamente, un grupo protector puede ser removido selectivamente como se desee durante el transcurso de una síntesis. Pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores en: Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3ª Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY y Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, NY. Los grupos protectores de amino representativos incluyen a título no limitativo: formilo, acetilo, trifluoracetilo, bencilo, benciloxicarbonilo (“CBZ”), terc-butoxicarbonilo (“Boc”), trimetilsililo (“TMS”), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo (“TES”), tritilo y grupos tritilo sustituidos, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (“Fmoc”), nitro-veratrilocarbonilo (“NVOC”) y similares. Los grupos protectores de hidroxilo incluyen a título no limitativo, aquellos en los que el grupo hidroxilo sea está acilado o alquilado tales como éteres de bencilo y tritilo, así como también éteres de alquilo, éteres de tetrahidropirano, éteres de trialkilsililo (por ejemplo, grupos TMS o TIPPS) y éteres de alilo.

La expresión “sales farmacéuticamente aceptables” tiene por objeto incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, en función de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en la presente. Si los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, puede obtenerse y sales por adición de bases, para lo cual se pone contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, sea tal cual sea en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales derivadas a partir de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, líquido, magnesio, manganeso, potasio, sodio, cinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, lo que incluye las aminas sustituidas, las aminas cíclicas, las aminas que se presentan en la naturaleza, y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibencililetildiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfina, piperazina, piperidina, residuos de poliamina, procaína, purinas,

teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Si los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, es posible obtener sales por adición de ácido para lo cual se ponen en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, sea el estado puro sea en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales por adición de ácido, farmacéuticamente aceptables, incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido mono hidrógeno carbónico, ácido fosfórico, ácido monohidrógeno-fosfórico, ácido sulfúrico, ácido monohidrógeno-sulfúrico, ácido yodhídrico, o ácido fosforoso y similares, como también las sales derivadas a partir de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido malónico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido subérico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido ftálico, ácido bencensulfónico, ácido *p*-tolilsulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido metanosulfónico, y similares. También se incluyen las sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y las sales de ácidos orgánicos tales como ácido glucurónico ácido galacturónico, y similares (véanse, por ejemplo, Berge, S.M. et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 66:1-19, 1977). Determinados compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos sean convertidos en sales de adición sea de base sea de ácido.

Las formas nuestras de los compuestos pueden ser regenerados poniendo el contacto con una base o ácido y aislando el compuesto progenitor de una manera convencional. La forma progenitora del compuesto difiere de las diversas formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en solventes polares, pero por lo demás para los fines de la presente invención las sales son equivalentes a la forma progenitora del compuesto.

Además de las formas de sal, en la presente se describen compuestos que se hallan en una forma de éster profarmacológico. Los "profármacos" de los compuestos descritos en la presente son aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos bajo condiciones fisiológicas de manera de proveer los compuestos de la presente invención. Además, es posible convertir los profármacos en los compuestos de la presente invención mediante métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo*. Por ejemplo, es posible convertir los profármacos lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se los colocada en el reservorio de un parche transdérmico con un enzima adecuado o con un reactivo químico. Los profármacos son frecuentemente, pero no necesariamente, inactivas desde el punto de vista farmacológico hasta que se conviertan en la droga activa. Típicamente se obtienen los profármacos enmascarando un grupo funcional en la droga del cual se creen que se requiere parcialmente necesario para la actividad con un progrupo (que se define lo que sigue) a efectos de formar un proresto que experimenta una transformación, tal como un desdoblamiento, bajo las condiciones especificados de uso para liberar el grupo funcional, y por ende la droga activa. El desdoblamiento del proresto puede tener lugar de manera espontánea, tal como mediante reacción de hidrólisis, o puede ser catalizado o inducido por otro agente, tal como una enzima, por la luz, por un ácido o por una base, o mediante un cambio de exposición o mediante un exposición a un parámetro físico o ambiental, tal como un cambio de temperatura. El agente puede ser endógeno con respecto a las condiciones de uso, tal como una enzima presente en las células en las cuales se administra el profármaco o las condiciones ácidas del estómago, o es posible suministrárselo como agente exógeno.

La expresión "progrupo" se refiere a un tipo de grupo protector que cuando se lo utiliza para enmascarar un grupo funcional dentro de una droga activa de manera de formar un proresto, convierte la droga en una prodroga. Típicamente, los progrupos están fijados al grupo funcional de la droga por medio de enlaces que son desdoblables bajo condiciones de uso específicas. Por lo tanto, un progrupo es una porción de un proresto que se desdobra de manera de liberar el grupo funcional bajo las condiciones de uso específicas. A título de ejemplo específico, un proresto de amida de la fórmula -NH-C(O)CH_3 comprende el progrupo -C(O)CH_3 .

En la técnica es bien conocida una amplia variedad de progrupos, así como de los prorestos correspondientes, adecuados para enmascarar grupos funcionales en los compuestos inhibidores selectivos del syk para obtener profármacos. Por ejemplo, es posible enmascarar un grupo funcional hidroxilo como un proresto sulfonato, éster (tales como acetato o maleato) o carbonato, que puede ser hidrolizada *in vivo* de manera de proveer el grupo hidroxilo. Un grupo funcional amino puede estar enmascarado como un proresto amida, carbamato, imina, urea, fosfenilo, fosforilo o sulfenilo, que puede hidrolizarse *in vivo* de manera de proveer el grupo amino. Un grupo carboxilo puede estar enmascarado como un éster (que incluye ésteres y tioésteres de metilo, etilo, pivaloiloilometilo y sililo), proresto amida o hidrazida, que puede hidrolizarse *in vivo* de manera de proveer el grupo carboxilo. La invención incluye aquellos ésteres y grupos acilo conocidos en la especialidad para modificar la solubilidad o características de hidrólisis para su uso como formulaciones de liberación prolongada o de profármaco. Otros ejemplos específicos de progrupos adecuados y de sus respectivas prorestos serán evidentes para las personas con pericia la especialidad.

Determinados compuestos de la presente invención puede existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, que incluyen las formas hidratadas. El término "solvato" se refiere a un complejo formado por combinación de moléculas de solvente con moléculas o iones del soluto. El solvente puede ser un compuesto orgánico, un compuesto

inorgánico, o una mezcla de ambos. Algunos ejemplos de solventes incluyen a título no limitativo: metanol, N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, metilsulfóxido, y agua. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas, y están destinadas a quedar abarcadas dentro de los alcances de la presente invención. Determinados compuestos de la presente invención puede existir en múltiples formas, cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los fines considerados por la presente invención, y están destinadas a recaer dentro de los alcances de la presente invención.

Determinados compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o enlaces dobles; a no ser que se indique otra cosa, los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos, regioisómeros e isómeros individuales (por ejemplo, enantiómeros) están destinados, todos ellos, a quedar abarcados dentro de los alcances de la presente invención. Estos isómeros pueden ser resueltos o sintetizados asimétricamente mediante la utilización de métodos convencionales para hacer que los isómeros sean "ópticamente puros", es decir sustancialmente libres de sus otros isómeros. Por ejemplo, si se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, es posible prepararlo mediante síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quirral, separándose la mezcla diastereomérica resultante y desdoblándose el grupo auxiliar a efectos de proveer los enantiómeros puros deseados. Como alternativa, si la molécula contiene un grupo funcional básico, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, se forman las sales diastereoméricas con un ácido o base ópticamente activa adecuada, seguido por resolución de los diastereómeros así formados mediante cristalización fraccionada o mediante medios cromatográficos bien conocidos en la técnica, y la siguiente recuperación de los enantiómeros puros.

Los compuestos de la presente invención también podrán contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar radiomarcados con isótopos radiactivos, tales como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono -14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, radioactivos o no, están destinadas a quedar abarcadas entre los alcances de la presente invención.

El término "administración" se refiere a la administración oral, la administración en forma de un supositorio, el contacto tópico, la administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intranasal o subcutánea, o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una bomba mini-osmótica, a un sujeto. La administración puede tener lugar por cualquier vía, lo que incluye la vía parenteral y transmucosal (por ejemplo, bucal, sublingual, palatal, gingival, nasal, vaginal, rectal, o transdérmica). La administración parenteral incluye, por ejemplo, la administración intravenosa, intramuscular, intraarteriolar, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular e intracraneal. Otros modos de administración incluyen a título no limitativo, el uso de formulaciones liposomales, la infusión intravenosa, los parches transdérmicas, *etc.*

Un "agonista" o "activador" se refiere a un agente o molécula que se liga a un receptor de la invención, estimula, incrementa, abre, activa, facilita, refuerza la activación o actividad enzimática, sensibiliza o regula al alza la actividad de un receptor de la invención.

Un "antagonista" o "inhibidor" se refiere a un agente o molécula que inhibe o se liga a, bloquea parcial o totalmente la estimulación o actividad, disminuye, cierra, impide o retarda la activación o actividad enzimática, desactiva, desensibiliza o regula a la baja la actividad de un receptor de la invención. Tal como se utiliza en la presente, el término "antagonista" también incluye un agonista reverso o inverso.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "condición o trastorno que responde a la modulación de syk" y los términos y frases relacionados, se refieren a una condición o trastorno asociados con una actividad inadecuada, por ejemplo, inferior o superior a la normal, del syk y que responde al menos parcialmente, o es afectada al menos parcialmente por, la modulación de syk (por ejemplo, el antagonista o agonista de syk tiene como resultado una mejoría en el bienestar del paciente, por lo menos en algunos pacientes). La actividad funcional adecuada del syk podría ser el resultado de la expresión del syk en células que normalmente no expresan el receptor, mayor que la producción normal del syk, o más lento que la activación metabólica normal o eliminación del syk o de sus metabolitos activos, la expresión acrecentada de syk o del grado de desactivación intercelular (lo que conduce a, por ejemplo, trastornos y condiciones inflamatorias e inmunorrelacionados) o a una expresión disminuida del syk. Una condición o trastorno asociados con syk puede incluir una "condición o trastorno mediada por syk".

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "una condición o trastorno mediados por lo menos parcialmente por la actividad de la syk quinasa", y las expresiones y términos relacionados, se refieren a una condición o trastorno caracterizados por una actividad inadecuada del syk, por ejemplo, mayor que la normal. La actividad funcional inadecuada del syk puede ser el resultado de la expresión del syk en células que normalmente no expresan el syk, o una expresión acrecentada del syk o un mayor grado de activación intercelular (lo que conduce a, por ejemplo, trastornos y

- condiciones inflamatorias e inmunorrelacionadas). Una condición o trastorno mediados por lo menos en parte por la actividad de la syk quinasa, puede estar completa o parcialmente mediada por una actividad funcional inadecuada del syk. Sin embargo, una condición o trastorno mediados por lo menos en parte por la actividad de la syk quinasa es una en la cual la modulación del syk tiene como resultado algún efecto sobre la condición o trastornos subyacentes (por ejemplo, un antagonista del syk tiene como resultado alguna mejoría en el bienestar del paciente, por lo menos en algunos pacientes).
- Tal como se utiliza en la presente, el término “inflamación” se utiliza para referirse a la infiltración de células blancas de la sangre (por ejemplo, leucocitos, monocitos, etc.) en el área que se está tratando por restenosis.
- La expresión “intervención” se refiere a una acción que producen un efecto sobre o que está destinado a alterar el curso del proceso de una enfermedad. Por ejemplo, la expresión “intervención vascular” se refiere al uso de un procedimiento intravascular tal como angioplastia o a un stent para abrir un vaso sanguíneo obstruido.
- La expresión “dispositivo intravascular” se refiere a un dispositivo que es útil para un procedimiento de recanalización vascular a efectos de restaurar el flujo de la sangre a través de un vaso sanguíneo obstruido. Los ejemplos de dispositivos intramusculares incluyen sin limitación, stents, catéteres de globo, injertos venosos/arteriales autólogos, injertos venosos/arteriales de prótesis, catéteres vasculares, y shunts vasculares.
- Tal como se utiliza en la presente, la expresión “JAK” se refiere a una quinasa Janus (RefSeq No. de Registro P-43408) o a una variante de la misma que es capaz de mediar la expresión de los genes *in vitro* o *in vivo*. Las variantes de JAK incluyen proteínas sustancialmente homólogas al JAK nativo, es decir, proteínas que tienen una o más supresiones, inserciones o sustituciones que se presentan naturalmente o no naturalmente (por ejemplo, derivados, homólogos y fragmentos de JAK). La secuencia de aminoácidos de una variante de JAK es preferiblemente idéntica en al menos aproximadamente 80% a la de un JAK nativo, más preferentemente idéntica en al menos aproximadamente 90%, y más preferentemente aún, idéntica en por lo menos aproximadamente 95%.
- La expresión “leucocito” se refiere a cualquiera de las diversas células sanguíneas que tienen un núcleo y un citoplasma, separadas dentro de una delgada capa blanca cuando se centrifuga sangre entera, y ayudan a proteger al cuerpo contra infecciones y enfermedades. Los ejemplos de leucocitos incluyen a título no limitativo los neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos.
- La expresión “mamífero” incluye sin limitación seres humanos, animales domésticos (por ejemplo, perros o gatos), animales de granja (vacas, caballos, o cerdos), monos, conejos, ratones, y animales de laboratorio.
- Las expresiones “modular”, “modulación” y similares se refieren a la capacidad de un compuesto de incrementar o disminuir la función y/o expresión del syk, pudiendo dicha función incluir la actividad reguladora de la transcripción y/o la ligación a proteína. La modulación puede tener lugar *in vitro* o *in vivo*. La modulación, como se describe en la presente, incluye la inhibición, antagonismo, antagonismo parcial, activación, agonismo o agonismo parcial de una función o característica asociados con el syk, sea directamente o indirectamente, y/o la regulación al alza o regulación a la baja de la expresión del syk, sea directamente o indirectamente. En una forma de realización preferida, la modulación es directa.
- Los inhibidores o antagonistas son compuestos que por ejemplo se ligan a, bloquean total o parcialmente la estimulación, disminuyen, impiden, inhiben, retardan la activación, desactivan, desensibilizan, o regulan a la baja la transducción de señales. Los activadores o agonistas son compuestos que, por ejemplo se ligan a, estimulan, incrementan, abren, activan, facilitan, refuerzan la activación, activan, sensibilizan o regulan al alza la transducción de señales. La capacidad de un compuesto de inhibir la función del syk puede demostrarse en un ensayo bioquímico, por ejemplo, un ensayo de ligación, o un ensayo basado en células, por ejemplo, un ensayo de transfección transitoria.
- Los “moduladores” de la actividad se utilizan para referirse a “ligandos”, “antagonistas” y “agonistas” identificados mediante ensayos *in vitro* y *in vivo* para establecer su actividad y sus homólogos y miméticos. Los moduladores incluyen los ligandos, antagonistas, agonistas, moléculas y similares que se presentan naturalmente y los sintéticos. Los ensayos para identificar los antagonistas y agonistas incluyen, por ejemplo, la aplicación de compuestos moduladores putativos a células, en la presencia o ausencia de un receptor de la invención, y seguidamente determinar los efectos funcionales sobre la actividad de un receptor de la invención. Las muestras o ensayos que comprenden un receptor de la invención que han sido tratados con un activador, inhibidor, o modulador potenciales, son comparados con muestras de control sin el inhibidor, activador, o modulador, para examinar la amplitud del efecto. A las muestras de control (no tratadas con moduladores) se les asigna un valor de actividad relativo del 100%. Se logra la inhibición cuando el valor de la actividad de un receptor de la invención referido al control es de aproximadamente 80%, opcionalmente 50% ó 25-1%. Se logra la activación cuando el valor de la actividad de un receptor de la invención con respecto al control es superior en un 110%, opcionalmente en un 150%, opcionalmente en un 200-500%, o en un 1.000-3.000%.

El término “paciente” se refiere a animales humanos y no humanos, en especial mamíferos. Los ejemplos de pacientes comprenden a título no limitativo, a seres humanos, vacas, perros, gatos, caprinos, ovinos, porcinos y conejos.

5 Con referencia ahora a las composiciones de la invención, la expresión “vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a un vehículo o excipiente que es útil para preparar una composición farmacéutica que en términos generales es segura, carece de toxicidad y que no es indeseable desde el punto de vista biológico u otro, e incluye un vehículo o excipiente que es aceptable para uso veterinario y también para uso farmacéutico humano. Tal como se la utiliza en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, la expresión “vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable” incluye tanto uno como más de tales vehículos o excipientes.

10 Las expresiones “cantidad farmacéuticamente efectiva”, “cantidad terapéuticamente efectiva” o “dosis terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad de compuesto sujeto que suscitará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que el investigador, veterinario, médico u otro clínico desee obtener. La expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” incluye aquella cantidad de un compuesto que, cuando se lo administre, es suficiente para impedir el desarrollo de, o para aliviar en alguna medida, uno o más de los síntomas de la condición o trastorno que se está tratando. La cantidad terapéuticamente efectiva variará en función del compuesto, trastorno o condición y de su gravedad, y de la edad, peso, etc., del mamífero que debe ser tratado.

15 La expresión “plaqueta” se refiere a una célula diminuta, no nucleada, de forma de disco que se encuentra en el plasma sanguíneo de los mamíferos y que funciona de manera de promover la coagulación de la sangre.

20 Las expresiones “impide”, “impedir”, y las variantes gramaticales de las mismas, tales como se utilizan en la presente, se refieren a un método para retardar o excluir parcial o totalmente la presentación o recurrencia de un trastorno o condición y/o uno o más de sus síntomas concurrentes o para impedir que un sujeto adquiera o readquiera un trastorno o condición o para reducir el riesgo corrido por un sujeto de adquirir o readquirir un trastorno o condición o uno más de sus síntomas concurrentes.

La expresión “recanalización” se refiere al proceso de restaurar el flujo o para volver a unir un canal interrumpido del cuerpo, tal como un vaso sanguíneo.

25 La expresión “estenosis” se refiere al estrechamiento o bloqueo de una arteria en el mismo sitio en el que se ha efectuado el tratamiento, tal como una angioplastia o un procedimiento de stent.

30 Las expresiones “selectivamente” o “específicamente” cuando se refieran a la ligación a un receptor, se refieren a una reacción de ligación que es determinante de la presencia del receptor, frecuentemente en una población heterogénea de receptores y de otros elementos biológicos. Por lo tanto, bajo condiciones designadas, los compuestos se ligan a un receptor particular por lo menos dos veces por encima del fondo, y más típicamente más de 10 a 100 veces por encima del fondo. La ligación específica de un compuesto bajo tales condiciones requiere que se seleccione un compuesto en base a su carácter específico con respecto a un receptor particular. Por ejemplo, es posible cribar moléculas orgánicas pequeñas de manera que sólo se obtienen aquellos compuestos que de manera específica o selectiva se ligan a un receptor seleccionado y que no lo hagan a otros receptores o proteínas. Puede utilizarse una variedad de formatos de ensayo para seleccionar compuestos que sean selectivos con respecto a un receptor en particular. Por ejemplo, se utilizan de manera rutinaria ensayos de cribado de elevado rendimiento a efectos de seleccionar compuestos que sean selectivos con respecto a un receptor en particular.

40 Tal como se la utiliza en la presente, la expresión “anemia de las células falciformes” se refiere a un trastorno heredado de las células rojas de la sangre en la que ambos alelos de hemoglobina codificarán la proteína hemoglobina de hoz (S), es decir, el genotipo S/S. La presencia de hemoglobina anormal tiene como resultado la producción de células de forma inusual, que no sobreviven la duración usual de tiempo en la circulación de la sangre. Por ello resulta una anemia. El término “anemia” se refiere a una disminución de las células rojas en la sangre y/o de la hemoglobina en la sangre.

45 La expresión “enfermedad de las células de forma de hoz” se refiere a un trastorno heredado de las células rojas de la sangre en la que un alelo de hemoglobina codifica la proteína hemoglobina de hoz (S), y el otro alelo codifica otra proteína de la hemoglobina que usual, tal como la hemoglobina (S), (C), (D), (E), y (β Thal). Los ejemplos de genotipo de la enfermedad de las células en hoz incluyen, sin limitación, los genotipos S/S, S/C, S/D, S/E, y S/ β Thal. Los tipos más comunes de enfermedad de células en forma de hoz incluyen la anemia de las células en hoz, la enfermedad de la hemoglobina C en forma de hoz, la talasemia beta-plus de hoz, y la talasemia beta-cero de hoz.

50 En la presente, el “sujeto” incluye por definición animales tales como los mamíferos, que incluyen a título no limitativo, los primates (por ejemplo, los humanos), vacas, ovejas, caprinos, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares. En formas de realización preferidas, el sujeto es un ser humano.

5 Tal como se utiliza en la presente, la expresión “syk” se refiere a una tirosina quinasa de bazo (spleen tyrosine kinase) (RefSeq No. de Registro P-043405) o a una variante de la misma que es capaz de mediar una respuesta celular a los receptores de células T *in vitro* o *in vivo*. Las variantes syk incluyen proteínas sustancialmente homólogas al syk nativo, es decir, proteínas que tienen una o más supresiones, inserciones o sustituciones de aminoácidos que se presentan naturalmente o no naturalmente (por ejemplo, derivados, homólogos y fragmentos de syk). La secuencia de la variante de syk es preferiblemente de por lo menos aproximadamente el 80% idéntico a la de un syk nativo, más preferiblemente por lo menos aproximadamente 90%.y más preferentemente aún, al menos aproximadamente 95%.

La expresión “inhibidor de syk” se refiere a cualquier agente que inhiba la actividad catalítica de la tirosina quinasa de bazo.

10 La expresión “trombosis” se refiere al bloqueo o coagulación de un vaso sanguíneo causado por el agrupamiento de células, siendo el resultado la obstrucción del flujo de la sangre. La expresión “trombosis” se refiere al coágulo que se forma dentro de un vaso sanguíneo.

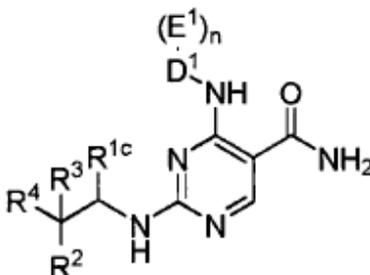
15 Las expresiones “tratar”, “tratamiento” y las variaciones gramaticales de las mismas, tal como se utilizan en la presente, incluyen retardar, aliviar, mitigar o reducir, parcial o completamente la intensidad de uno o más síntomas concurrentes de un trastorno o condición y/o aliviar, mitigar o impedir una o más causas de un trastorno o condición. Los tratamientos de acuerdo con la invención pueden aplicarse a título preventivo, profiláctico, paliativo o como remedio.

La expresión “vaso” se refiere a cualquier canal para transportar un fluido, tal como una arteria o vena. Por ejemplo, un “vaso sanguíneo” se refiere a cualquiera de los vasos a través de los cuales la sangre circula en el cuerpo. La expresión “lumen o luz libre” de un vaso sanguíneo se refiere al espacio interior o pocillo abierta del vaso sanguíneo.

20 2. Realizaciones de la invención

a. Compuestos

La presente invención provee en un grupo de formas de realización, un compuesto que tiene la fórmula (I):



(I)

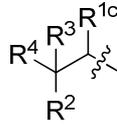
o uno de sus tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

25 D¹ es fenilo sustituido con heteroarilo;

cada E¹ está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, alcoxi C₁₋₈, alquil C₁₋₈-tio, aminocarbonilo, alcoxi C₁₋₈-carbonil-alqueno C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈-carbonil C₁₋₈alcoxi C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, oxo, halo, ciano, haloalquilo C₁₋₈, haloalcoxi C₁₋₈, aminosulfonilo, heteroarilsulfonilo; amino, hidroxilo, arilalqueno C₁₋₈, fenilo, aminoalquilo C₁₋₈, aminocicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo, heteroarilo y heterociclilalqueno C₁₋₈;

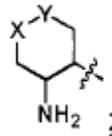
30 el subíndice n es 0, 1, 2, 3 ó 4;

el resto:



es bien:

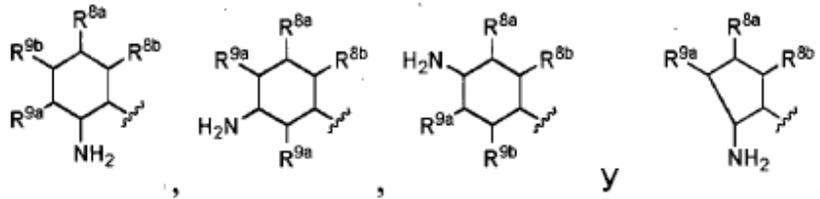
(a)



5 y

donde X e Y están seleccionados independientemente del grupo que consiste en: CH₂, NH, NCOOH₃ y S;

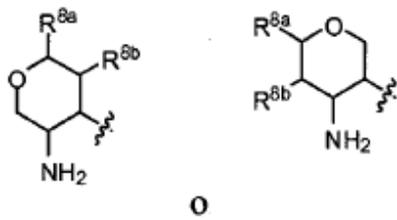
(b) seleccionado del grupo que consiste en:



10 y donde cada R^{8a} y R^{8b} es independientemente H, hidroxilo, halo o si están en carbonos adyacentes, pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y

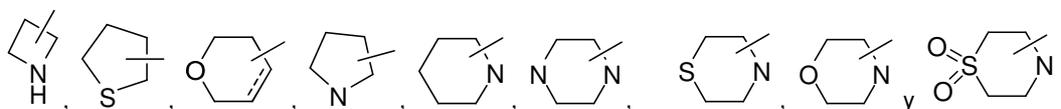
cada R^{9a} y R^{9b} es independientemente H, hidroxilo, halo o si están en carbonos adyacentes, pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula; o

(c)

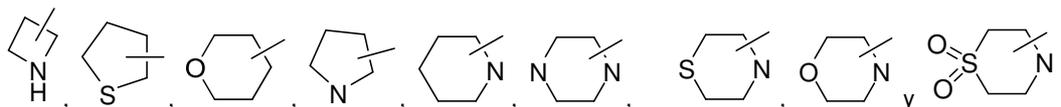


15 donde cada R^{8a} y R^{8b} es independientemente H o pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula; y "cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado mono o policíclico alifático, que puede formar un anillo con puente o un anillo espiro, y que puede tener uno o más enlaces dobles o triples.

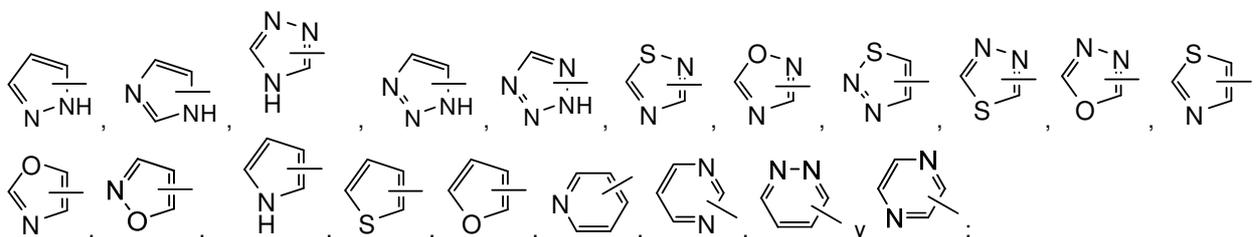
20 La presente invención provee en otro grupo de formas de realización, un compuesto en donde cualquiera de los grupos heterociclilo de la fórmula I está seleccionado del grupo que consiste en:



La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde el heterociclilo está seleccionado del grupo que consiste en:

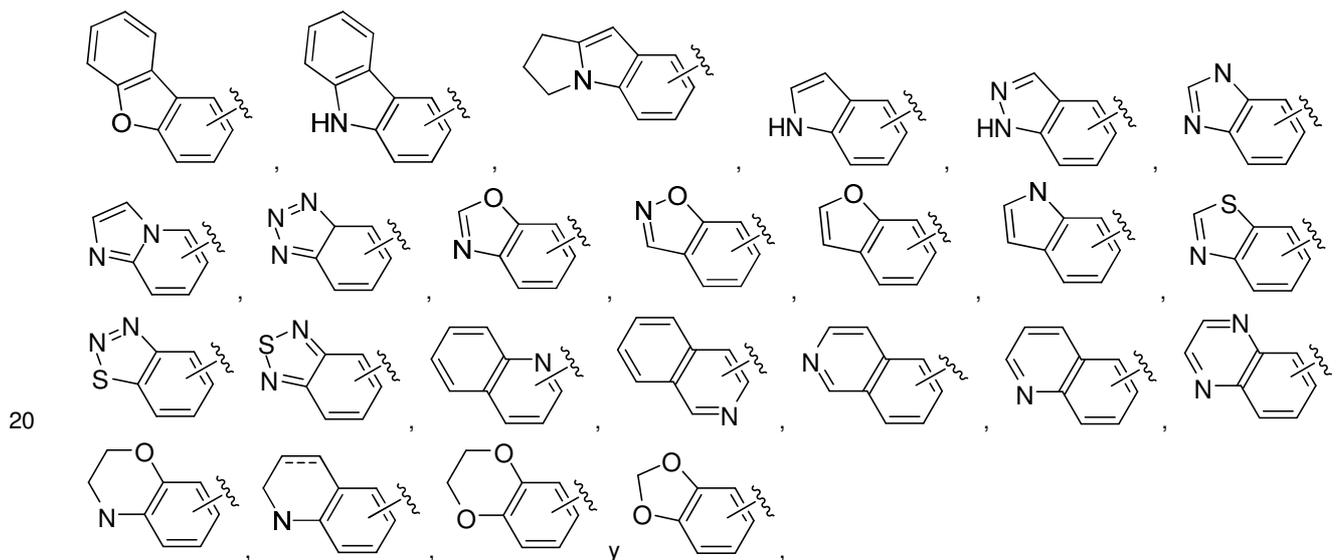


5 La presente invención provee en otro grupo de formas de realización, un compuesto en donde un grupo heteroarilo del compuesto de la fórmula I está seleccionado del grupo que consiste en:



10 cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en: alquilo C₁₋₈, amino, hidroxilo, oxo, halo, alcoxi C₁₋₈, hidroxialquilo C₁₋₈, aminoalquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-carbonilo, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, aminocicloalquilo C₁₋₈, aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, arilo, arilalcoxi C₁₋₈-carbonilamino, alquil C₁₋₈-sulfonilo, aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo y alquil C₁₋₈-heterociclilo.

La presente invención provee en otro grupo de formas de realización, un compuesto en donde un grupo heteroarilo del compuesto de la fórmula I es un grupo heteroarilo policíclico seleccionado del grupo que consiste en:

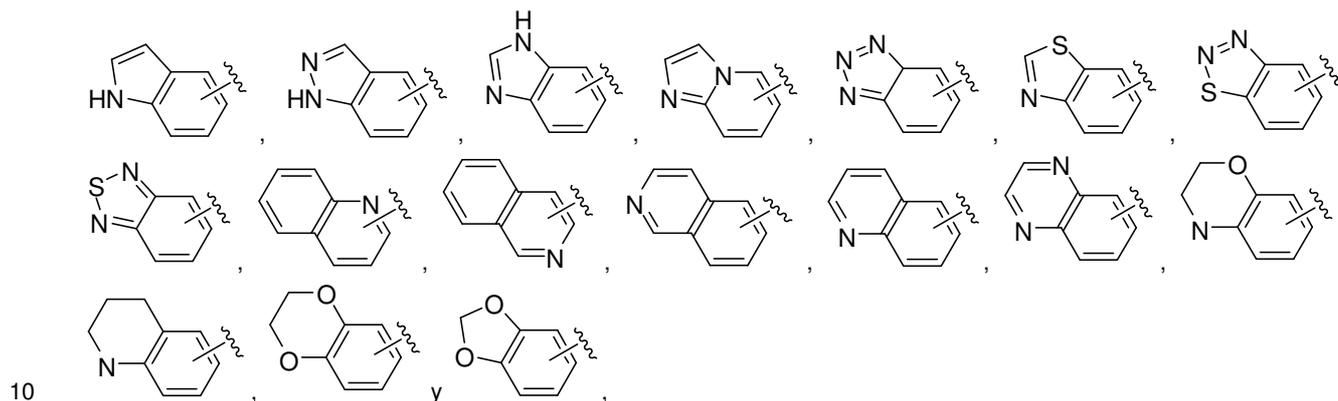


opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes R^{7d} seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en: alquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-carbonilo, aminocicloalquilo C₁₋₈, aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, alquilen C₁₋₈-

5 aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, amino, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, arilo, arilalcoxi C₁₋₈-carbonilamino, hidroxilo, alcoxi C₁₋₈, alquil C₁₋₈-sulfonilo, aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, oxo, halo, fenilo y alquil C₁₋₈-heterociclilo; y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula.

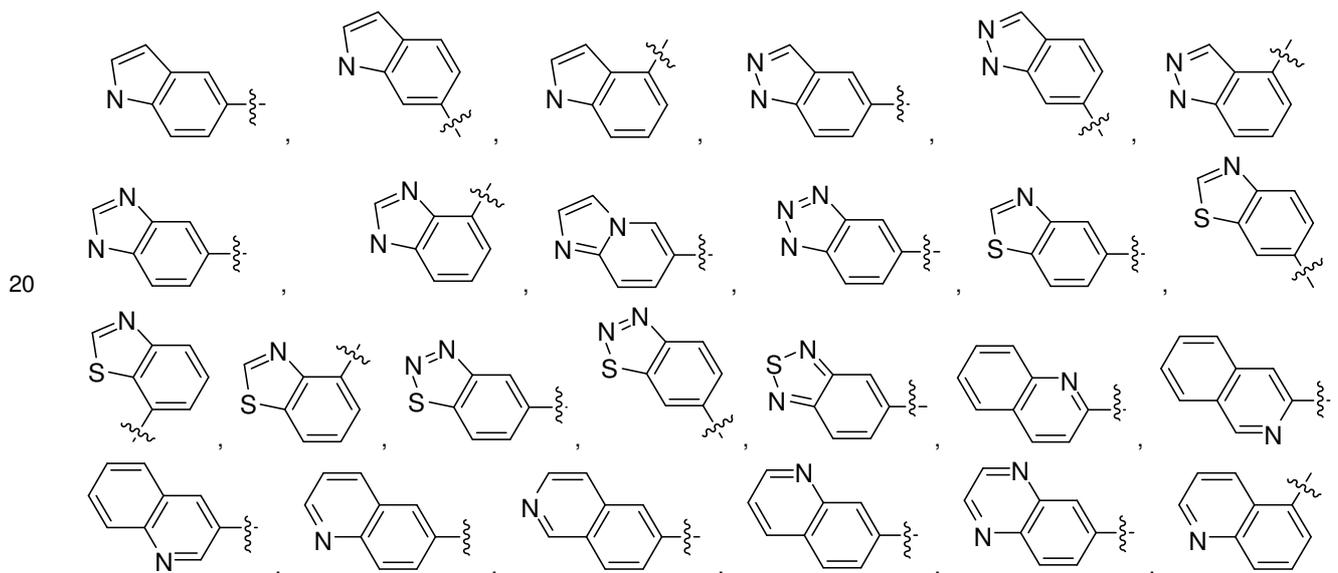
La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde: D¹ es heteroarilo bicíclico.

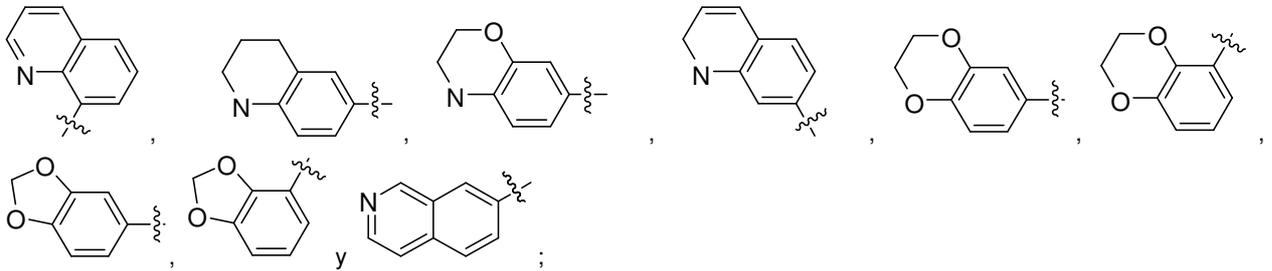
También se describen en la presente compuestos en donde D¹ está seleccionado del grupo que consiste en:



15 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes R^{7d} seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en: alquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-carbonilo, aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, amino, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, arilalcoxi C₁₋₈-carbonilamino, hidroxilo, alcoxi C₁₋₈, alquil C₁₋₈-sulfonilo, aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, oxo, halo, fenilo y alquil C₁₋₈-heterociclilo; y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula.

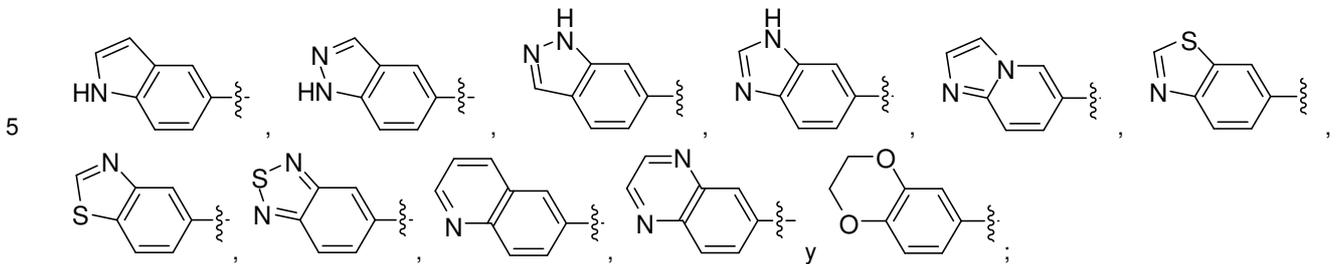
También se describen en la presente compuestos en donde D¹ está seleccionado del grupo que consiste en:





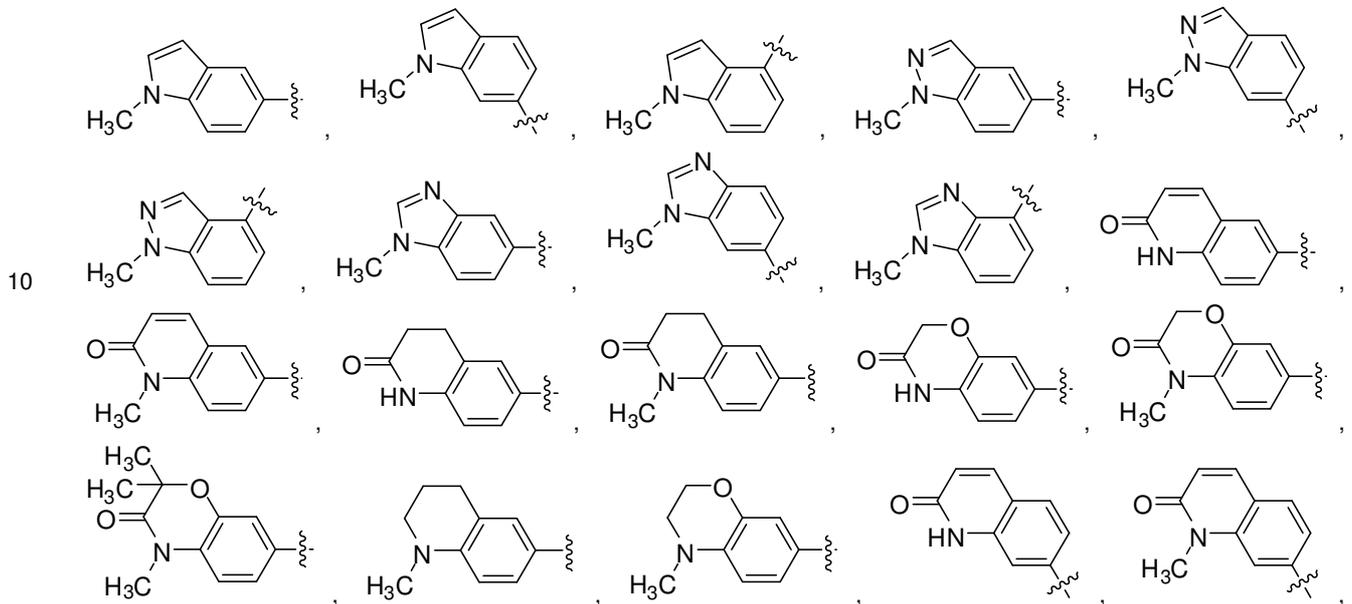
y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula.

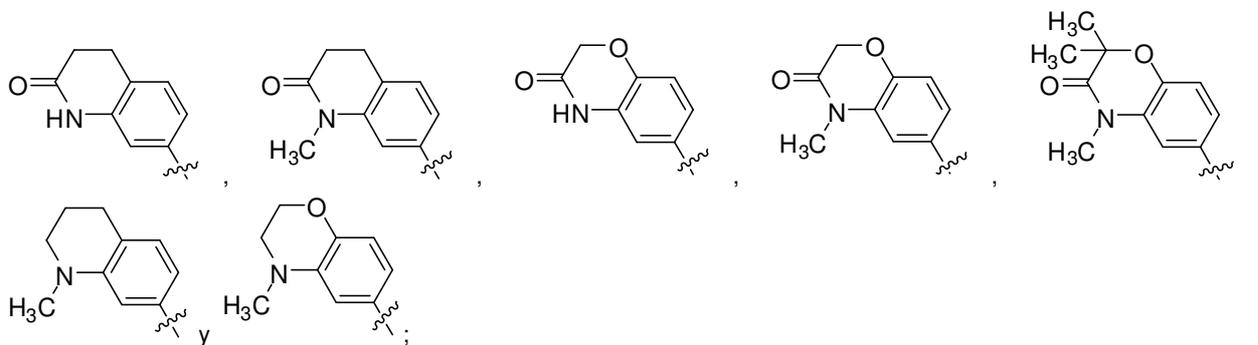
También se describen en la presente compuestos en donde D¹ está seleccionado del grupo que consiste en:



y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula.

También se describen en la presente compuestos en donde D¹ está seleccionado del grupo que consiste en:

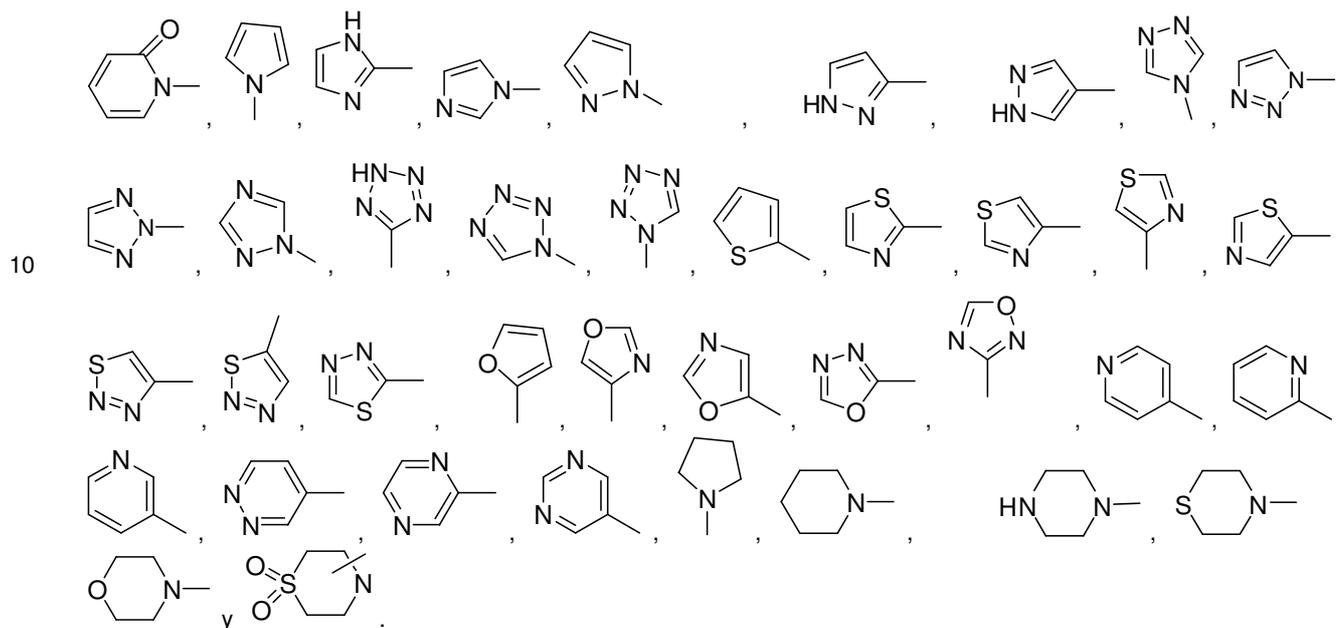




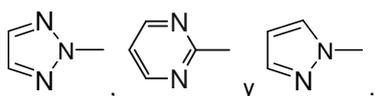
y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula.

5 La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde cada E¹ está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, heteroarilo, heterociclilo, halo, haloalquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈, acilo C₁₋₈, aminoalquilo C₁₋₈, aminosulfonilo, alquil C₁₋₈-sulfonilo y acilamino.

La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde cada E¹ está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en

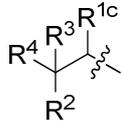


15 La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde cada E¹ está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en

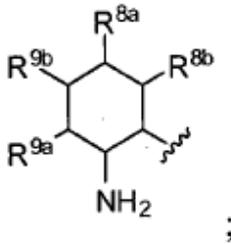


La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde R² es amino.

La presente invención provee, en otra forma de realización, un compuesto en donde el resto:

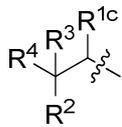


es

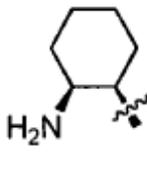


5 en donde cada R^{8a} y R^{8b} es de modo independiente H o pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y cada R^{9a} y R^{9b} es de modo independiente H o pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula.

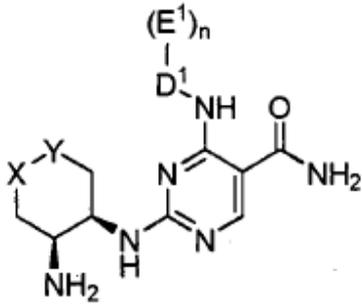
La presente invención provee, en otro grupo de realizaciones, un compuesto en donde el resto:



10 es



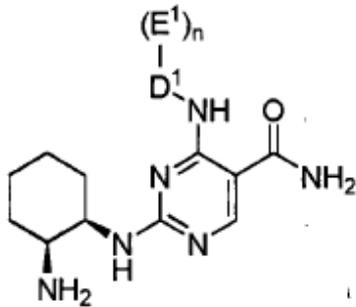
La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



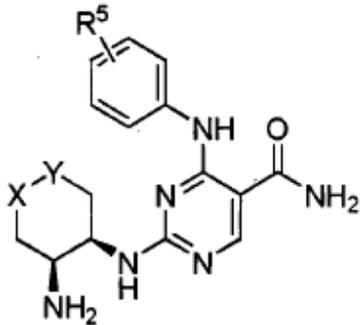
;

en donde cada X e Y está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en: CH₂, NH, NCOCH₃ y S.

La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



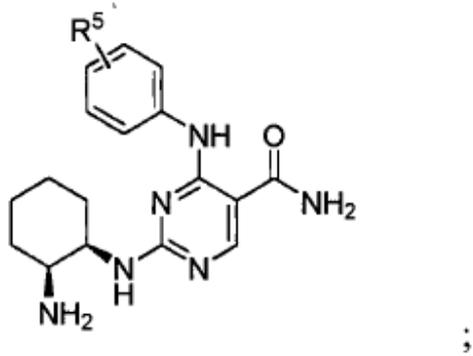
5 La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



;

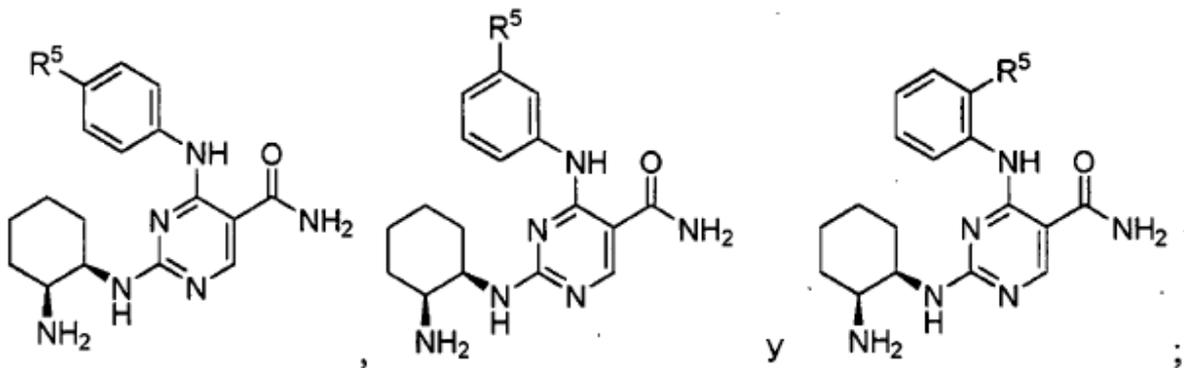
en donde cada X e Y está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en: CH₂, NH, NCOCH₃ y S ; y R⁵ es heteroarilo.

La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



en donde R⁵ es heteroarilo.

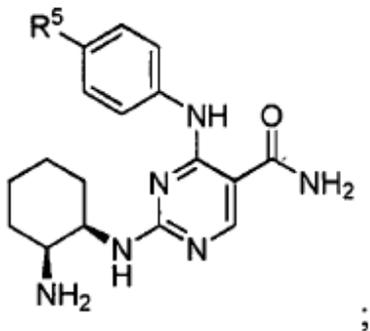
La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



5

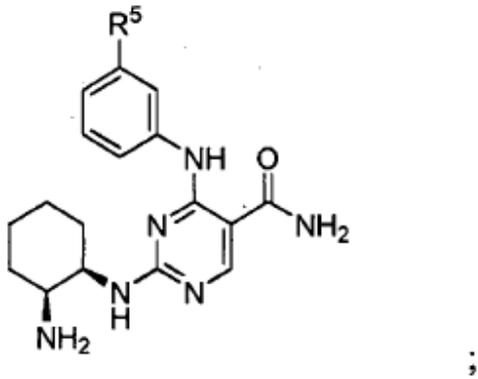
en donde R⁵ es heteroarilo.

La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



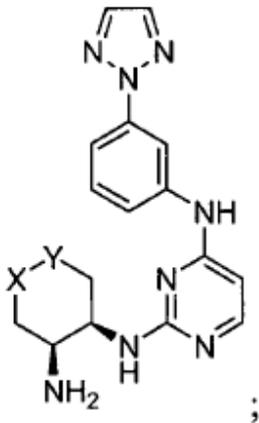
en donde R⁵ es heteroarilo.

10 La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:



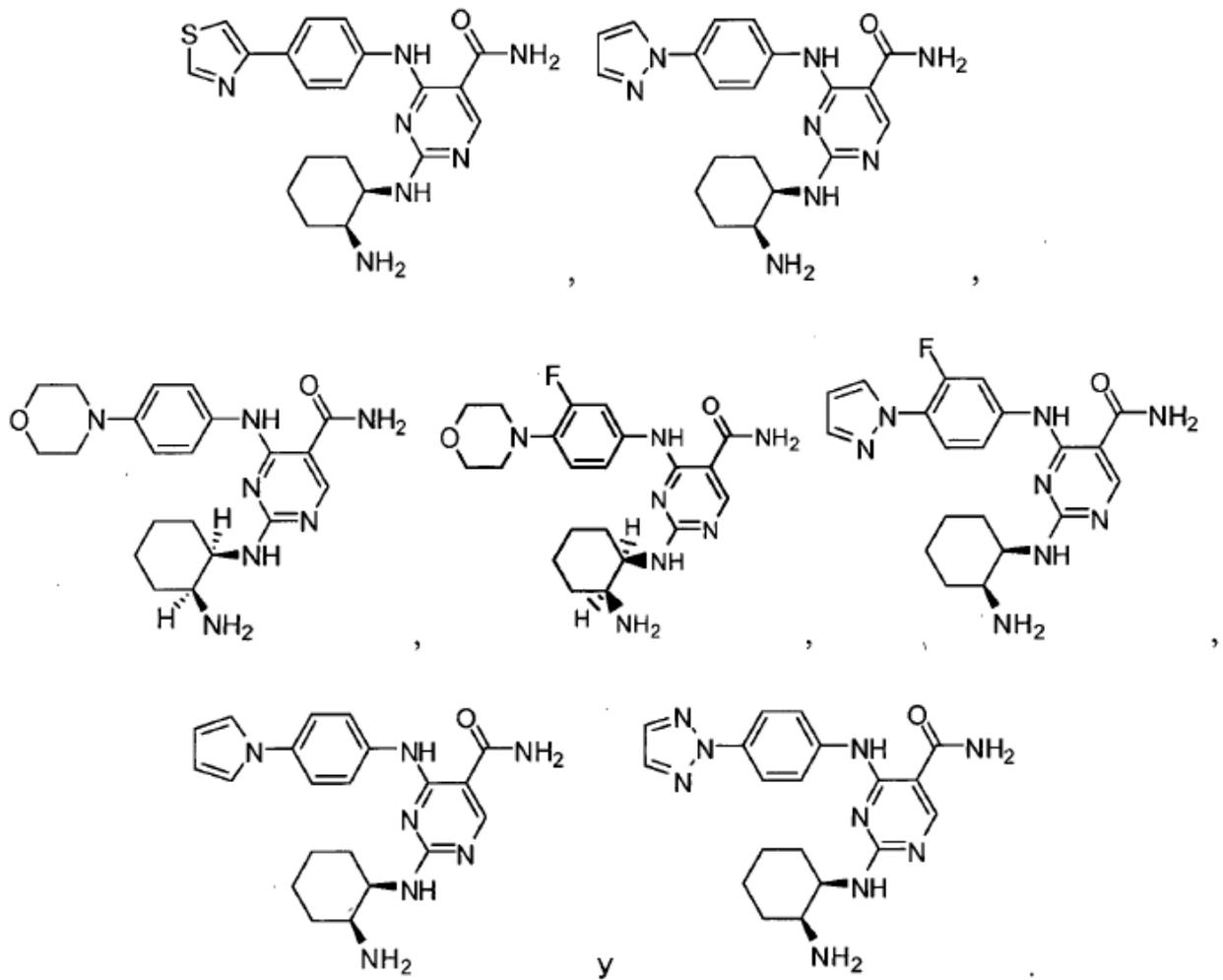
en donde R⁵ es heteroarilo.

La presente invención provee en otro grupo de realizaciones, un compuesto que tiene la fórmula:

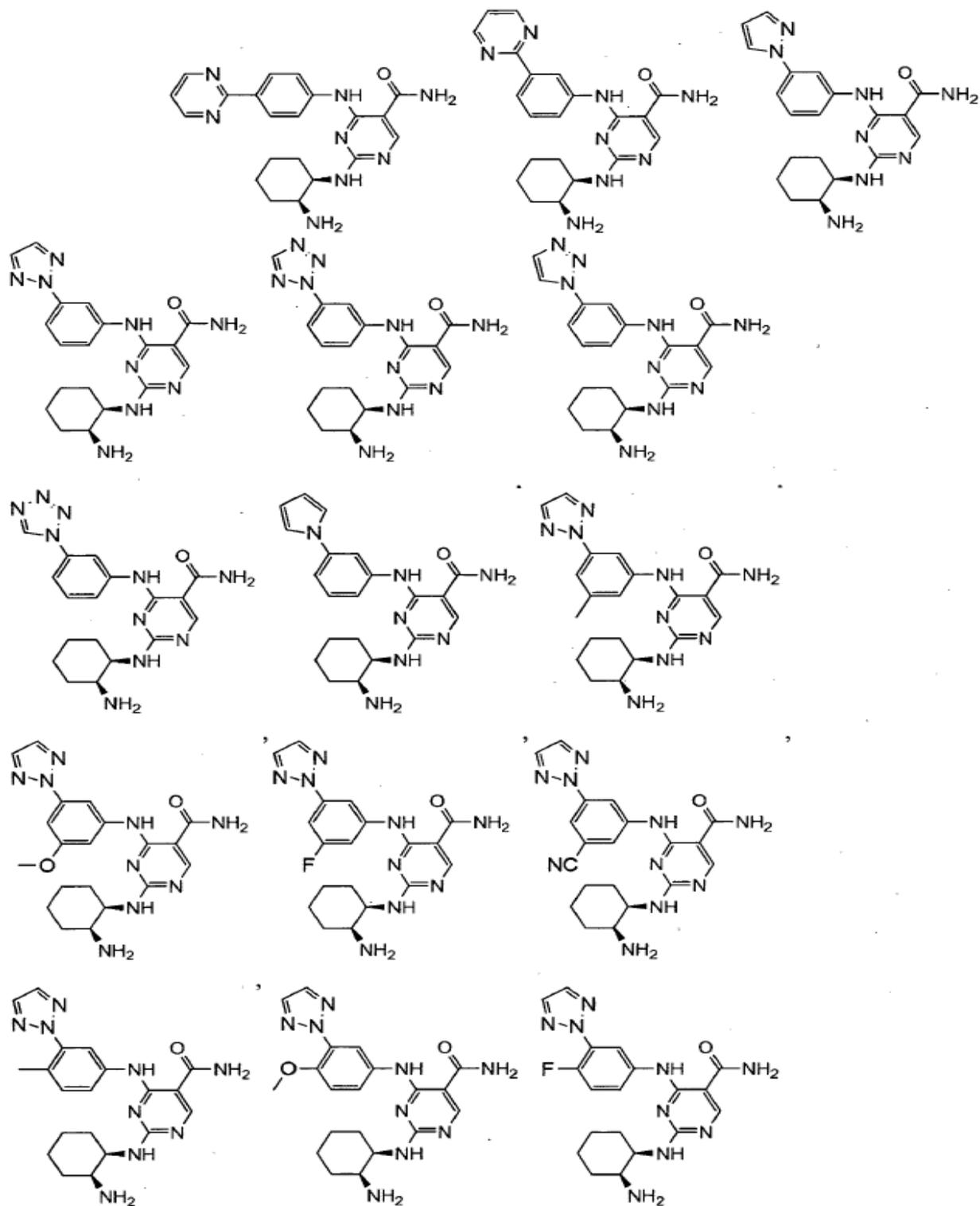


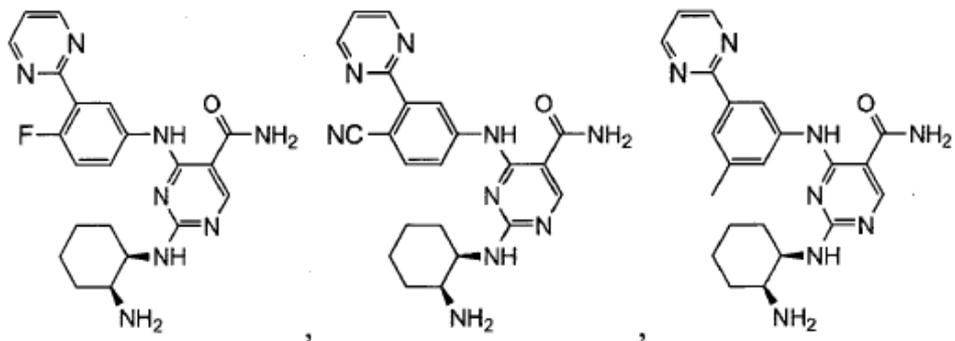
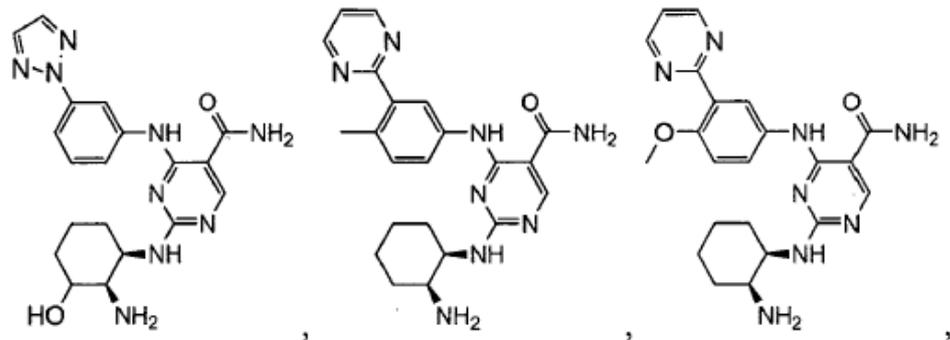
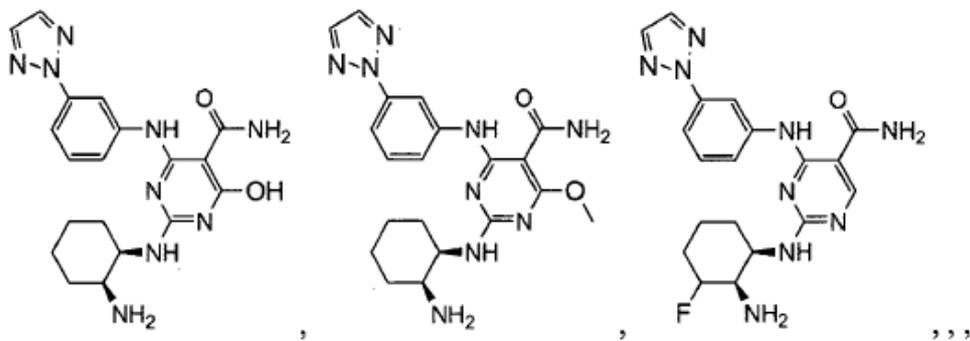
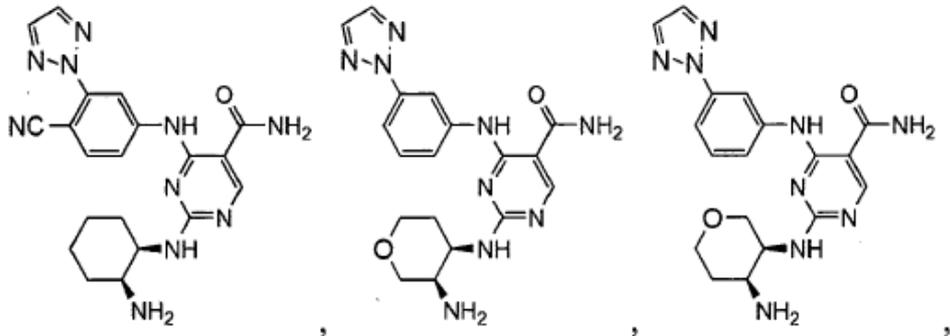
5 en donde cada X e Y está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en: CH₂, NH, NCOCH₃ y S.

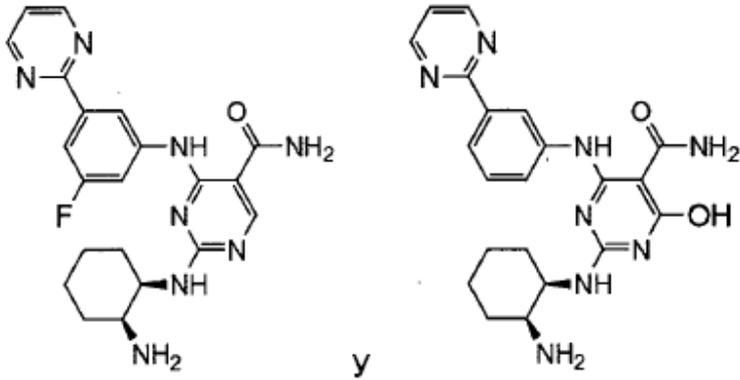
La presente invención provee en otra forma de realización, un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



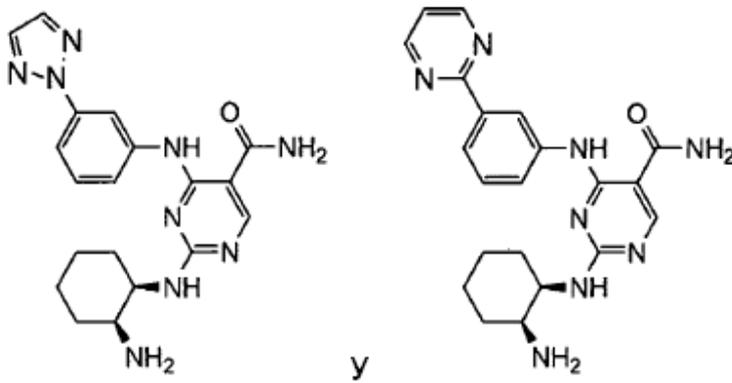
La presente invención provee en otra forma de realización, un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



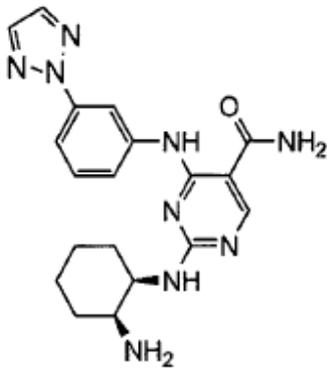




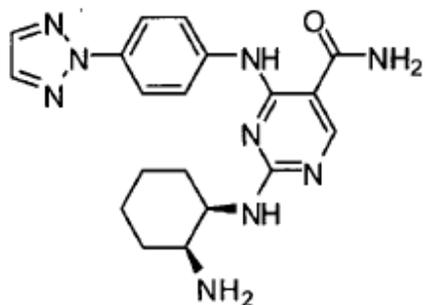
La presente invención provee en otra forma de realización, un compuesto que tiene la fórmula:



5 La presente invención provee en otra forma de realización, un compuesto que tiene la fórmula:



La presente invención provee en otra forma de realización, un compuesto que tiene la fórmula:



Se entiende que en otro grupo de formas de realización, cualquiera de las formas de realización anteriores también puede combinarse con otras formas de realización listadas en al presente, para formar otras formas de realización de la invención.

5 b. Métodos de síntesis

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante técnicas de síntesis orgánica conocidas, que incluyen los métodos descritos con mayor detalle en los Ejemplos. En términos generales, los compuestos de la estructura (I) arriba descrita pueden prepararse mediante la siguiente Figura 3, en la que todos los sustituyentes son como se definieron en lo que precede, a menos que se indique otra cosa.

10 Los compuestos que tienen la Fórmula I pueden prepararse de acuerdo con la Figura 3. Se convierte ácido carboxílico 1.1 en cloruro de ácido 1.2 mediante un procedimiento de un solo paso con un agente de cloración, tal como cloruro de tionilo, y esterificación con un alcohol, tal como etanol, de manera de formar el compuesto 1.3 mediante el uso de compuestos similares a los que se describe en lo que sigue. Se diclora el éster 1.3 con un agente de cloración tal oxiclورو de fósforo. El desplazamiento selectivo del grupo 4-cloro de la 2,4-dicloropirimidina por una amina adecuada, tal como E¹-D¹-NH₂ (disponible en el comercio o sintetizado mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica), bajo condiciones básicas, tales como con diisopropilamina (DIA), permite obtener los compuestos de la Fórmula 1.5. La hidrólisis subsiguiente del éster, desplazamiento del segundo grupo cloro con EDC y tratamiento con amoníaco, permite obtener el compuesto 1.7. También es posible preparar el compuesto éter de benzotriazolilo 1.7 mediante una ruta lineal. El desplazamiento del grupo éter de benzotriazolilo con una amina adecuada tal como Y¹-NH₂ (disponible en el comercio o sintetizado mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica), permite obtener el producto deseado I, en el que E¹-D¹ y Y¹ es como se definió en lo que precede.

25 Un experto en la técnica reconocería que en determinadas formas de realización de la estructura (I) cuando E¹-D¹ o Y¹ comprende un heteroátomo terminal, puede ser ventajoso utilizar una estrategia de grupo protector. Es posible remover el grupo protector mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, de manera de obtener los compuestos de la estructura (1).

Los compuestos de la presente invención pueden por lo general utilizarse como la base libre. Como alternativa, los compuestos de esta invención pueden utilizarse en la forma de sales de adición de ácidos como se describe en lo que sigue.

c. Inhibición de la syk quinasa

30 La actividad de un compuesto específico como un inhibidor de una syk quinasa puede ser evaluada in vitro o in vivo. En algunas formas de realización, la actividad de un compuesto especificado puede ser evaluada en un ensayo celular. También podría evaluarse la selectividad en ensayos bioquímicos con quinasas aisladas.

35 Para evaluar la actividad inhibidora de la JAK quinasas, y para determinar el grado de selectividad del compuesto particular en comparación con la syk quinasa, pueden utilizarse tipos de ensayo similares. Una de las maneras para ensayar dicha inhibición es la detección del efecto de los compuestos de la presente invención sobre los productos genes de regulación al alza o regulación a la baja. En el ensayo Ramos/IL4, se estimulan células B con la citoquina Interleuquina-4 (IL-4) que conduce a la activación de la trayectoria de JAK/Stat por intermedio de la fosforilación de las quinasas de la familia JAK, JAK1 y JAK3, que a su vez fosforilan y activan el factor de transcripción Stat-6. Uno de los genes regulados al alza por el Stat-6 activado es el receptor de IgE de baja actividad, CD23. Para estudiar el efecto de los inhibidores (por ejemplo, los compuestos pirimidindiamina 2,4-sustituidos descritos en la presente) sobre las JAK1 y

40

JAK3 quinasas, se estimulan células B de Ramos con IL-4. A los 10' después de la estimulación, se someten las células a citometría de flujo intracelular para medir la magnitud de la fosforilación del STAT-6. A las 20 a 24 horas después de la estimulación, se tiñen las células para la regulación al alza de CD23 y se las analiza mediante citometría de flujo. Una reducción de la cantidad de STAT-6 fosforilado y/o de CD23 de superficie de célula presente, comparado con las condiciones de control, indica que el compuesto de ensayo inhibe activamente la trayectoria de la JAK quinasa.

Adicionalmente, la estimulación por IL-6 de las células B de Ramos induce JAKs 1, 2, y Tyk2, lo que conduce a fosforilación de Stat-3 y Erk. A los 10' después de la estimulación, se someten las células a citometría de flujo intercelular a efectos de medir la capacidad del compuesto para inhibir estos acontecimientos de fosforilación. Para medir específicamente la actividad del JAK2, se utilizará la cepa de células Cellsensor irfl-bla HEL que expresa el gen informante de beta-lactamasa controlado por Stat5 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Estas células expresan un mutante JAK2 constitutivamente activo (JAK2V617F), hallado naturalmente en los neoplasmas mieloproliferativos (Constantinescu, S., et al., Trends Biochem. Sci., 2008; 33:122-31). Como medida de la actividad inhibitoria de los compuestos sobre JAK2 se utiliza una reducción en la cantidad de expresión del gen informante de beta-lactamasa.

Adicionalmente, la actividad de los compuestos de la invención puede caracterizarse ensayando el efecto de los compuestos de la presente invención descritos en la presente sobre células epiteliales de pulmón A549 y células U937. Las células epiteliales de pulmón A549 y las células U937 regulan al alza la expresión de superficie de ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de diferentes estímulos. Por ello, y utilizándose la expresión de ICAM-1 como lectura de salida, es posible evaluar los efectos de los compuestos de ensayo sobre diferentes trayectorias de señalización en el mismo tipo de células. La estimulación con IL-1 β por intermedio del receptor de IL-1 β activa la trayectoria de TRAF6/NF κ B, siendo el resultado una regulación al alza de ICAM-1. El IFN.gamma induce la regulación al alza de ICAM-1 por intermedio de la activación de la trayectoria de JAK1/JAK2. La regulación al alza de ICAM-1 puede cuantificarse mediante citometría de flujo a través de una curva de compuesto dosis, y se calculan los valores de CE₅₀.

La actividad de los compuestos de la invención puede adicionalmente caracterizarse ensayando el efecto de los compuestos de la presente invención descritos en la presente sobre células epiteliales de pulmón A549 y células U937. Las células epiteliales de pulmón A549 y las células U937 regulan al alza la expresión de superficie de ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de diferentes estímulos. Por ello, mediante el uso de la expresión de ICAM-1 como salida de lectura, es posible evaluar los efectos de los compuestos de ensayo sobre diferentes trayectorias de señalización en el mismo tipo de células. La estimulación con IL-1 β a través del receptor de IL-1 β activa la trayectoria de TRAF6/NF κ B, resultando la regulación al alza de ICAM-1. El IFN.gamma induce la regulación al alza de ICAM-1 por intermedio de la activación de la trayectoria de JAK1/JAK2. La regulación al alza del ICAM-1 puede ser cuantificada mediante citometría de flujo a través de una curva de compuesto dosis, y se calculan los valores de CE₅₀. En los ejemplos se describen con mayor detalle ejemplos de este tipo dados a título de ejemplo.

En términos generales, los compuestos activos descritos en la presente inhiben la trayectoria de la JAK quinasa con un CI₅₀ en el intervalo de aproximadamente 1 mM o menos, medido en los ensayos descritos en la presente. Por supuesto, los expertos en la técnica comprenderán que los compuestos que exhiben CI₅₀s menores (por ejemplo del orden de 100 μ M, 75 μ M, 50 μ M, 40 μ M, 30 μ M, 20 μ M, 15 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 500 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, o aún inferior) pueden ser particularmente útiles en aplicaciones terapéuticas. En aquellos casos en que se desee una actividad específica con respecto a un tipo de célula en particular, es posible ensayar el compuesto a efectos de establecer su actividad con el tipo de célula deseada, y efectuar un ensayo opuesto para establecer una falta de actividad contra otros tipos de células. El grado de "inactividad" deseado en tales ensayos o complementarios, o la relación deseada entre actividad e inactividad, puede variar para diferentes situaciones, y puede ser seleccionado por el usuario.

Típicamente, los compuestos activos también inhiben la expresión de CD23 estimulado por IL-4 en células B con una CI₅₀ en el intervalo de aproximadamente 20 μ M o menos, típicamente en el intervalo de aproximadamente 10 μ M, 1 μ M, 500 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, o aún inferior. Un ensayo adecuado que puede utilizarse es el ensayo descrito en los Ejemplos, "Ensayo para Línea de Células B Ramos Estimulada con IL-4." En determinadas formas de realización, los compuestos activos de la presente invención tienen una CI₅₀ de menos de o igual a 5 μ M, mayor de 5 μ M pero inferior a 20 μ M, mayor de 20 μ M, o mayor de 20 μ M pero inferior a 50 μ M en el ensayo descrito en los Ejemplos.

Típicamente, los compuestos activos también inhiben la expresión de ICAM1 (CD54) inducida por la exposición a IFN.gamma en células U937 o A549 con una CI₅₀ en el intervalo de aproximadamente 20 μ M o menos, típicamente en el intervalo de aproximadamente 10 μ M, 1 μ M, 500 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, o aún inferior. La CI₅₀ contra la expresión de ICAM (CD54) en células estimuladas con IFN.gamma puede determinarse en un ensayo celular funcional con una línea de células A549 o U937 aislada. Los ensayos adecuados que pueden utilizarse abarcan los ensayos descritos en los Ejemplos, "Línea Epitelial A549 Estimulada con IFN γ " y "Ensayo FACS U937 IFN.gamma. ICAM1," respectivamente. En

determinadas formas de realización, los compuestos activos de la presente invención tienen una CI_{50} de menos de o igual a 20 μM , mayor que 20 μM , o mayor que 20 μM pero menos de 50 μM en los ensayos descritos en los Ejemplos.

d. Composiciones y métodos de administración

5 Por otra parte, la presente invención provee composiciones que comprenden uno o más compuestos de la fórmula (I) o un tautómero de los mismos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

10 Tal como se utiliza en la presente, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a cualquier sal por adición de base o de ácido cuyos contraiones no son tóxicos para el paciente en las dosis farmacéuticas de la sal. En el campo farmacéutico hay una cantidad de sales farmacéuticamente aceptables bien conocidas. Si en estas composiciones se utilizan sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención, es preferible que dichas sales sean derivadas de ácidos y bases inorgánicos u orgánicos. Entre dichas sales de ácido se hallan los siguientes: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencén sulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanfor sulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, lucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, cloruro, bromhidruro, iodhidruro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenesulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato, hidroháluros (por ejemplo, hidroclocloruros e hidrobromuros), sulfatos, fosfatos, nitratos, sulfamatos, malonatos, salicilatos, metilén-bis-b-hidroxinaftoatos, gentisatos, isetionatos, di-p-toluoiltartratos, etanosulfonatos, ciclohexilsulfamatos, quinatos, y similares. Las sales por adición de bases, farmacéuticamente aceptables, incluyen sin limitación, aquellas derivadas de bases de metales alcalinos o alcalino térreos o de bases orgánicas convencionales, tales como trietilamina, piridina, piperidina, morfolina, N-metil-morfolina, sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y de potasio, sales de metales alcalino térreos tales como sales de calcio y de magnesio, sales de bases orgánicas tales como sales diciclohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales de aminoácidos tales como arginina, lisina, etc.

25 Por otra parte, los grupos que contienen nitrógeno básicos pueden estar cuaternizados con agentes como haluros de alquilo inferior tales como cloruros, bromuros e yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; dialquilo sulfatos tales como sulfatos de metilo, dietilo, dibutilo y diamilo; haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros e yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; haluros de aralquilo tales como bromuros de bencilo y de fenetilo, y otros. De esta manera se obtienen productos que son solubles o dispersibles en agua o aceite.

30 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden producirse mediante métodos bien conocidos en la técnica tales como los procesos convencionales de de granulación, mezclado, disolución, encapsulado, liofilización o emulsión, entre otros. Es posible producir las composiciones de diversas formas, que incluyen gránulos, precipitados, o en forma de partículas, polvos que incluyen los polvos secados por congelación, secados por rotación o secados por rociado, polvos amorfos, tabletas, cápsulas, jarabes, supositorios, inyecciones, emulsiones, elixires, suspensiones o soluciones. Las formulaciones pueden opcionalmente contener estabilizantes, modificadores del pH, surfactantes, modificadores de la biodisponibilidad, y combinaciones de los mismos.

35 La expresión "forma de dosis unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de drogas calculada para producir la iniciación, tolerabilidad y/o efectos terapéuticos, deseados, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado (por ejemplo, una ampolla). Además, es posible preparar composiciones más concentradas de las cuales es seguidamente producir composiciones más diluidas para dosis unitarias. Por lo tanto, las composiciones más concentradas contendrán sustancialmente más de, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más veces la cantidad de uno o más inhibidores del syk.

40 Los métodos para preparar tales formas de dosis son conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18ª ED., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990)). Además, es posible preparar sales farmacéuticamente aceptables de los inhibidores del syk de la presente invención (por ejemplo, sales por adición de ácido), e incluirlas en las composiciones, mediante la utilización de procedimientos estándar conocidos por el experto en la técnica de la química orgánica sintética, y se los describe, por ejemplo en: J. March, Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure, 4ª Ed. (Nueva York: Wiley-Interscience, 1992).

50 Típicamente las composiciones incluyen un vehículo o excipiente farmacéutico convencional, y pueden adicionalmente incluir otros agentes médicos, vehículos, adyuvantes, diluyentes, reforzadores de la permeación en los tejidos, solubilizantes, y similares. Es preferible que la composición contenga de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 90%, preferentemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 75%, más preferentemente de aproximadamente 0,1% a 50%, más preferentemente aún de aproximadamente 0,1% a 10% en peso de uno o más inhibidores de syk,

consistiendo el resto en vehículo y/o excipientes farmacéuticos adecuados. Los excipientes adecuados pueden adoptarse a medida para la composición y vía de administración mediante métodos bien conocidos en la especialidad, por ejemplo, *REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, supra*.

5 Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden utilizarse en estas composiciones incluyen los intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbatos de potasio, mezclas de glicérido
10 parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, hidrógenofosfato disódico, hidrógenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinil pirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y grasa de lanolina.

15 Los ejemplos de excipientes adecuados incluyen a título no limitativo: lactosa, dextrosa, sucrosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, y ácidos poliacrílicos tales como Carbopols. Las composiciones pueden adicionalmente incluir agentes de lubricación tales como talco, estearato de magnesio, y aceite mineral; agentes humectantes; agentes de emulsión; agentes de suspensión; agentes de conservación tales como metil-, etil-, y propil-hidroxi-benzoatos; agentes para ajustar el pH tales como ácidos y bases inorgánicos y orgánicos, agentes de endulzamiento; y agentes saborizantes.

20 La administración de una composición que comprende uno o más inhibidores de syk con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables ventajosos puede llevarse a cabo por intermedio de cualquiera de los modos de administración aceptados. Por lo tanto, la administración puede ser por ejemplo, oral, tópica, intravenosa, subcutánea, transcutánea, transdérmica, intramuscular, intra-articulación, parenteral, intra-arteriolar, intradérmica, intraventricular, intracraneana, intraperitoneal, intralesional, intranasal, rectal, vaginal, mediante inhalación o por intermedio de un reservorio implantado. La expresión "parenteral", tal como se utiliza en la presente, incluye las técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intra-sinovial, intrasternal, intratecal, intrahepático, 25 intralesional e intracraneal. Es preferible que las composiciones se administren oralmente o por vía intravenosa. Las formulaciones de la invención pueden estar diseñadas para una acción breve, liberación rápida, o acción prolongada. Además, es posible administrar los compuestos de una manera local en lugar de sistémicamente, tal como la administración (por ejemplo, inyección) en forma de una formulación de liberación prolongada. De acuerdo con una forma de realización representativa, las composiciones de esta invención están formuladas para la administración farmacéutica a un mamífero, preferentemente un ser humano.

30 Las composiciones de la presente invención que contienen uno o más inhibidores de syk pueden administrarse de manera repetida, por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o más veces, o la composición puede administrarse mediante infusión continua. Los sitios adecuados para la administración incluyen, pero no se limitan a, piel, bronquios, tracto gastrointestinal, ano, vagina, ojo y oído. Las formulaciones pueden tomar la forma de un sólido, semisólido, polvo liofilizado, o formas de dosis líquidas tales como, por ejemplo, tabletas, píldoras, cápsulas, polvos, soluciones, 35 suspensiones, emulsiones, supositorios, enemas de retención, cremas, ungüentos, lociones, geles, aerosoles, o similares, preferentemente en formas de dosis unitarias adecuadas para la administración simple de dosis precisas.

40 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden estar en cualquier forma de dosis oralmente aceptable, lo que incluye tabletas, cápsulas, comprimidos, emulsiones, suspensiones, soluciones, jarabes, elixires, sprays, píldoras grandes, tabletas, polvos, gránulos, y formulaciones de liberación prolongada. Los excipientes adecuados para la administración oral incluyen tipos farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sodio sacarina, talco, celulosa, glucosa, gelatina, sucrosa, carbonato de magnesio, y similares. En el caso de tabletas para uso oral, los vehículos que se utilizan habitualmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Típicamente también se añaden agentes de liberación tales como estearato de magnesio. Para una forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón 45 de maíz seco. Si para uso oral se requieren suspensiones acuosas, se mezcla el ingrediente activo con agentes de emulsión y de suspensión. Si se desea, también es posible añadir determinados agentes endulzantes, saborizantes o colorantes.

50 En algunas formas de realización, las composiciones toman la forma de una píldora, tableta, o cápsula, y por lo tanto, la composición puede contener, junto con uno o más inhibidores del syk, un diluyente tal como lactosa, sucrosa, fosfato dicálcico, fosfato de calcio, y similares; un desintegrante tal como almidón o derivados del mismo; un lubricante tal como estearato de magnesio y similares; y/o un ligante tal como un almidón, goma de acacia, polivinilpirrolidona, gelatina, celulosa y derivados de los mismos. Es posible preparar una tableta mediante cualquiera de los procesos de compresión o moldeo conocidos por los expertos en la técnica. Es posible preparar tabletas comprimiendo en una máquina adecuada los inhibidores de syk en una forma de libre escurrimiento, por ejemplo, un polvo o gránulos, opcionalmente

mezclados con ingredientes accesorios, por ejemplo, ligantes, lubricantes, diluyentes, desintegrantes o agentes de dispersión. Las tabletas moldeadas pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla de los inhibidores de syk en polvo con cualquier vehículo adecuado.

5 Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden estar en la forma de supositorios para la administración rectal. Los mismos pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente adecuado no irritante que es sólido a la temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y que por ello se derretirá en el recto de manera de liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao, cera de abejas, PEG (polietilenglicol), grasa dura, y/o cocoglicérido hidrogenado. Las composiciones adecuadas para la administración rectal también pueden comprender un enema rectal unitario que contiene uno o más inhibidores de syk y vehículos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, etanol acuoso al 50% o una solución acuosa de sal) que sea fisiológicamente compatible con el recto y/o colon. El enema rectal unitario contiene una punta aplicadora protegida por una tapa inerte, preferentemente hecha de polietileno, lubricada con un lubricante tal como petrolato blanco, y preferentemente protegido por una válvula de una sola vía para impedir el flujo inverso de la fórmula dispensada. El enema rectal unitario también tiene una longitud suficiente, preferentemente de aproximadamente dos pulgadas, para su inserción en el colon a través del ano.

15 Las composiciones líquidas pueden prepararse disolviendo o dispersando uno o más inhibidores de syk y opcionalmente uno o más adyuvantes farmacéuticamente aceptables en un vehículo tales como, por ejemplo, solución salina acuosa, dextrosa acuosa, glicerol, etanol, y similares, de manera de formar una solución o suspensión, por ejemplo, para la administración oral, topical, o intravenosa. Las formulaciones farmacéuticas pueden prepararse como suspensiones o soluciones mediante el uso de un líquido estéril, tal como aceite, agua, alcohol, y combinaciones de los mismos. Para la administración oral o parenteral pueden añadirse surfactantes, agentes de suspensión o agentes de emulsión, farmacéuticamente aceptables. Las suspensiones pueden incluir aceites, tales como aceite de maní, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz y aceite de oliva. La preparación de la suspensión también puede contener ésteres de ácidos grasos, tales como oleato de etilo, miristato de isopropilo, glicéridos de ácidos grasos y glicéridos de ácidos grasos acetilados. Las formulaciones de las suspensiones pueden incluir alcoholes, tales como etanol, alcohol isopropílico, alcohol hexadecílico, glicerol y propilenglicol. En las formulaciones de suspensión también pueden utilizarse éteres, tales como poli(etilenglicol), hidrocarburos de petróleo tales como aceite mineral y petrolato, y agua.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden estar en una forma tópica, especialmente cuando el objetivo del tratamiento incluye áreas o órganos fácilmente accesibles mediante administración tópica, lo que incluye las enfermedades de los ojos, piel, o del tracto intestinal inferior. Para cada una de estas áreas u órganos se preparan fácilmente formulaciones tópicas adecuadas. Para la administración tópica, la composición que contienen uno o más inhibidores de syk puede estar en la forma de emulsiones, lociones, geles, espumas, cremas, gelatinas, soluciones, suspensiones, ungüentos, y parches transdérmicos.

30 La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede realizarse en una formulación de supositorio rectal. (véase en lo que precede) o en una formulación adecuada para enema. También pueden utilizarse parches tópicamente transdérmicos. Para las aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en un ungüento adecuado que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para la administración tópica de los compuestos de esta invención incluyen a título no limitativo: aceite mineral, petrolato líquido, petrolato blanco, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de una loción o crema adecuadas que contienen los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cetil ésteres, cera, alcohol cetílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

45 Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden ser administradas mediante aerosol o inhalación nasal. Para la administración por inhalación, las composiciones pueden ser administradas en forma de un polvo seco o en forma líquida mediante un nebulizador. Tales composiciones se preparan mediante técnicas conocidas en la técnica de las formulaciones farmacéuticas y pueden prepararse como soluciones en solución salina, para lo cual se emplea alcohol bencílico u otros agentes de conservación, promotores de adsorción adecuados, para reforzar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/o otros agentes de solubilización o de dispersión adecuados.

50 Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica de pH ajustado, o, lo que es preferible, como soluciones en solución salina estéril isotónica de pH ajustado, sea con sea sin un agente de conservación, tal como cloruro de benzalconio. Como alternativa, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de un ungüento tal como ungüento.

Para la administración parenteral, las composiciones pueden estar en la forma de soluciones inyectables estériles y de polvos envasados estériles. Es preferible que las soluciones inyectables se formulen con un pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5.

5 Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica mediante el uso de adecuados agentes de dispersión o de humectación y de suspensión. Las preparaciones inyectables estériles también pueden ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse se indican agua, solución de Ringer y soluciones isotónicas de cloruro de sodio. Además, como solvente y 10 medio de suspensión se emplean convencionalmente aceites fijos. Para esta finalidad puede emplearse cualquier aceite fijo blanco que incluya mono- o di-glicéridos sintéticos. Los ácidos grasos tales como el ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, y también lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables tales como el aceite de oliva o el aceite de castor, en sus versiones polioxiethylados. Estas soluciones o suspensiones de aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcoholes de cadena larga tal como un agente de dispersión carboximetilcelulosa o similar que son de uso común en la formulación de formas de dosis farmacéuticamente aceptables, que incluyen emulsiones y suspensiones. Para los fines de la formación pueden utilizarse también otros surfactantes de uso común tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o reforzadores de la biodisponibilidad que son de uso común en la preparación de formas de dosis sólidas, líquidas u otras, farmacéuticamente aceptables. Es posible formular los compuestos para su administración parenteral mediante 20 inyección, tal como mediante inyección de bolo o infusión continua. Una forma de dosis unitaria puede estar en forma de ampollas o de contenedores de múltiples dosis.

Las composiciones de la presente invención también pueden proveerse en una forma liofilizada. Tales composiciones pueden incluir un tampón, por ejemplo, bicarbonato, para la reconstitución antes de la administración, o el tampón puede estar incluido en la composición liofilizada para la reconstitución con, por ejemplo, agua. Por otra parte, la composición liofilizada puede comprender un vasoconstrictor adecuado, por ejemplo, epinefrina. La composición liofilizada puede proveerse en una jeringa, opcionalmente envasada en combinación con el tampón para la reconstitución, de manera tal que la composición reconstituida pueda administrarse inmediatamente a un paciente.

Cualesquiera de las formas de dosis que contienen cantidades efectivas se hallan dentro de los límites de experimentación rutinaria y dentro de los alcances de la invención. Una dosis terapéuticamente efectiva puede variar en función de la vía de administración y de la forma de la dosis. El o los compuestos representativos de la invención son una formulación que presenta un elevado índice terapéutico. El índice terapéutico es la relación entre las dosis de efecto tóxico y la dosis de efecto terapéutico, y puede expresarse como la relación entre DL_{50} y DE_{50} . La DL_{50} es la dosis que es letal para el 50% de la población, y la DE_{50} es la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población. La DL_{50} y la DE_{50} se determinan mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos de células animales o en animales 35 experimentales.

Además de las formas de dosificación representativas descritas en lo que precede, los excipientes, portadores y las formas de dosificación farmacéuticamente aceptables son generalmente conocidos por los expertos en la técnica y se hallan incluidos en la invención. Debe entenderse que una dosificación específica y un régimen de tratamiento para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente, y del momento de la administración, velocidad de la excreción, combinación de fármacos, criterio del médico a cargo y gravedad de la enfermedad articular que se está tratando. La cantidad del uno o más ingredientes activos también dependerá del compuesto particular y de otro agente terapéutico, caso de haberlo, presente en la composición.

e. Métodos de uso

45 La invención provee compuestos para uso en métodos para inhibir o disminuir la actividad del syk así como también para tratar o mejorar un estado, síntoma, condición, trastorno o enfermedad asociado con syk, en un paciente que lo necesite (por ejemplo, humano o no humano). En una forma de realización, el estado, síntoma, condición, trastorno o enfermedad asociado con syk, es mediado, al menos parcialmente, por la actividad de la syk quinasa. En formas de realización más específicas, la presente invención provee compuestos para uso en un método para tratar una condición o trastorno mediados al menos parcialmente por la actividad de la syk quinasa en una enfermedad cardiovascular, enfermedad 50 inflamatoria o enfermedad autoinmune.

En una forma de realización, la invención provee compuestos para uso en métodos para prevenir o tratar una condición en un mamífero, caracterizado por trombosis indeseada, que comprende el paso de administrar al mamífero una

cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto la presente invención. Tales condiciones incluyen a título no limitativo: reestenosis, síndrome coronario agudo, infarto de miocardio, angina inestable, angina refractaria, trombosis coronaria oclusiva que se presenta después de terapia trombolítica o después de angioplastia coronaria, un síndrome cerebrovascular trombóticamente mediado, apoplejía embólica, apoplejía trombótica, ataques isquémicos transitorios, trombosis venosa, trombosis de venas profundas, embolismo pulmonar, coagulopatía, coagulación intravascular diseminada, púrpura trombocitopénica trombótica, thromboangiitis obliterans, enfermedad trombótica asociada con trombocitopenia inducida por heparina, complicaciones trombóticas asociadas con la circulación extracorpórea, complicaciones trombóticas asociadas con la instrumentación tales como la cateterización cardíaca u otra cateterización intravascular, bomba de globo intra-aórtico, stent coronario o válvula cardíaca, condiciones que requieren la colocación de dispositivos de prótesis, y similares.

En otra forma de realización, la presente invención provee compuestos para uso en un método para tratar la trombosis, púrpura inmuno trombocítica, la trombocitopenia inducida por heparina, la cardiomiopatía dilatada, la enfermedad de las células falciformes, la aterosclerosis, infarto de miocardio, inflamación vascular, angina inestable o síndromes coronarios agudos.

En otra forma de realización, la presente invención también provee compuestos para uso en un método para tratar la alergia, asma, artritis reumatoide, enfermedad mediada por las células B tales como el linfoma que no sea de Hodgkin, síndrome antifosfolípido, lupus, psoriasis, esclerosis múltiple, enfermedad renal en etapa final, leucemia linfocítica crónica.

En otra forma de realización, la presente invención provee compuestos para uso en un método para tratar la anemia hemolítica o la púrpura inmune trombocitopénica.

Los compuestos descritos en la presente son también inhibidores potentes y/o selectivos de las JAK quinastas. Como consecuencia de esta actividad, los compuestos pueden utilizarse en una variedad de contextos in vitro, in vivo, y ex vivo para regular o inhibir la actividad de las JAK quinastas, de cascadas de señalización en las que las JAK quinastas desempeñan un papel, y las respuestas biológicas llevadas a cabo por tales cascadas de señalización. Por ejemplo, los compuestos pueden utilizarse para inhibir la JAK quinasa, sea in vitro sea in vivo, en virtualmente cualquier tipo de células que exprese la JAK quinastas, tales como en células hematopoyéticas en las que, por ejemplo, se expresa predominantemente el JAK3. También pueden utilizarse para regular la transducción de la cascada de señales en las que las JAK quinastas, particularmente el JAK3, desempeña un rol. Tal transducción dependiente de JAK de cascadas de señales incluye pero no se limitan a, las cascadas de señalización de los receptores de citoquina que implican la cadena gamma común tales como por ejemplo las cascadas de señalización de los IL-4, IL-7, IL-5, IL-9, IL-15 y IL-21, o IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, y IL-21. Los compuestos también pueden utilizarse in vitro o in vivo para regular, y en particular para inhibir, las respuestas celulares o biológicas afectadas por tal transducción, dependiente de JAK, de cascadas de señales. Tales respuestas celulares o biológicas incluyen, pero no se limitan a, la regulación al alza de IL-4/Ramos CD23 y la proliferación de células T mediada por IL-2. Es importante comprobar que pueden utilizarse los compuestos para inhibir las JAK quinastas in vivo como un enfoque terapéutico para el tratamiento o prevención de enfermedades mediadas, totalmente o en parte, por una actividad de JAK quinasa (que en lo que sigue lleva la denominación de "enfermedades mediadas por JAK quinasa"). Los ejemplos, no limitantes de enfermedades mediadas por JAK quinasa que pueden ser tratadas o prevenidas con los compuestos incluyen a título no limitativo los siguientes: alergias, asma, enfermedades autoinmunes tales como rechazo de trasplantes (por ejemplo, riñón, corazón, pulmón, hígado, páncreas, piel, intestino delgado, intestino grueso, reacción entre huésped e injerto (HVGR, host versus graft reaction), y reacción entre injerto y huésped (GVHR, graft versus host reaction), artritis reumatoide, y esclerosis lateral amiotrófica, enfermedades autoinmunes mediadas por las células T tales como esclerosis múltiple, psoriasis, y el síndrome de Sjögren; las enfermedades inflamatorias de Tipo II tales como la inflamación vascular (que abarca vasculitis, la arteritis, la aterosclerosis, y la enfermedad de las arterias coronarias); las enfermedades del sistema nervioso central tales como la apoplejía; las enfermedades pulmonares tales como la bronchitis obliterans y la hipertensión pulmonar primaria; las reacciones sólidas de hipersensibilidad de Tipo I; y las enfermedades malignas hematológicas tales como la leucemia y los linfomas.

Los ejemplos de enfermedades que son mediadas, por lo menos en parte, por la JAK quinasa y que pueden ser tratadas o prevenidas de acuerdo con los métodos incluyen a título no limitativo: las alergias, asma, las enfermedades autoinmunes tales como el rechazo a los trasplantes (por ejemplo, riñón, corazón, pulmón, hígado, páncreas, piel, reacción de rechazo de anfitrión versus injerto (HVGR), etc.), la artritis reumatoide, y la esclerosis lateral amiotrófica, la psoriasis y el síndrome de Sjögren, las enfermedades inflamatorias de Tipo II tales como la inflamación vascular (lo que incluye vasculitis, arteritis, aterosclerosis y la enfermedad de las arterias coronarias) u otras enfermedades inflamatorias tales como la osteoartritis, la enfermedad de los intestinos inflamatorios, la colitis ulcerante, la enfermedad de Crohn, la enfermedad idiopática de los intestinos inflamatorios, el colon espástico, la formación de cicatrices de bajo grado (por

ejemplo, esclerodermia, fibrosis incrementada, queloides, cicatrices post-quirúrgicas, fibrosis pulmonar, espasmos vasculares, migraña, lesión de reperfusión e infarto post miocardio), y el complejo o síndrome de sicca, las enfermedades del sistema nervioso central tal como la apoplejía, las enfermedades pulmonares tales como bronchitis obliterous e hipertensión pulmonar primaria, tensión, hipersensibilidad de Tipo IV retardada o mediada por células, y las enfermedades sólidas hematológicas tales como leucemias y linfomas.

En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para inhibir una actividad de una JAK quinasa, que comprende poner en contacto la JAK quinasa con una cantidad de un compuesto efectivo para inhibir una cantidad de la JAK quinasa, en el cual método el compuesto ha sido seleccionado entre los compuestos de esta invención. En determinadas formas de realización de los métodos descritos en la presente, el método se lleva a cabo in vivo.

En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para inhibir una actividad de una JAK quinasa, que comprende poner en contacto in vitro una JAK3 quinasa con una cantidad de un compuesto efectivo para inhibir una actividad de la JAK quinasa, en donde el compuesto ha sido seleccionado entre los compuestos de esta invención.

En una forma de realización específica, los compuestos pueden utilizarse para tratar y/o prevenir el rechazo de los receptores de trasplantes de órganos y/o tejidos (es decir, para tratar y/o prevenir el rechazo de aloinjertos). Los aloinjertos pueden ser rechazados por intermedio de una inmunoreacción mediada por las células o humoral, del receptor contra los antígenos de trasplante (histocompatibilidad) presente sobre las membranas de las células del donante. Los antígenos más potentes son gobernados por un complejo de loci genéticos que lleva la denominación de antígenos HLA (human leukocyte group A, leucocitos humanos del grupo A). Junto con los antígenos de los grupos sanguíneos ABO, son los principales antígenos de trasplante detectables en humanos.

Por lo general, el rechazo después un trasplante puede descomponerse en tres categorías: hiper agudo, que tiene lugar horas o días después de trasplante, agudo, que tiene lugar después de días o meses después de trasplante, y crónico, que tiene lugar meses o años después del trasplante.

El rechazo hiperagudo es causado principalmente por la producción de anticuerpos del huésped que atacan el tejido del injerto. En una reacción de rechazo hiperagudo, los anticuerpos se observan en el sistema vascular del trasplante muy poco después del trasplante. Poco después tiene lugar la coagulación vascular lo que conduce a la isquemia, necrosis final y muerte. El infarto de injerto no responde a las terapias inmunosupresoras conocidas. Dado que los antígenos HLA pueden identificarse in vitro, se utiliza la selección pre-trasplante para reducir de manera significativa el rechazo hiperagudo. Como consecuencia de esta selección, en la actualidad el rechazo hiperagudo es relativamente poco frecuente.

Se considera que el rechazo agudo es mediado por la acumulación de células específicas antígenas en el tejido del injerto. La inmunorreacción mediada por las células T contra estos antígenos (es decir, HVGR o GVHR) es el principal mecanismo del rechazo agudo. La acumulación de estas células conduce a un daño en el tejido del injerto. Se cree que tanto las células T CD4+ auxiliares como las células T CD8+ citotóxicas intervienen en este proceso y que el antígeno representado por las células dendríticas del donante y del huésped. Las células T CD4+ auxiliares ayudan a reclutar otras células efectoras, tales como macrófagos y eosinófilos, para el injerto. También intervienen las cascadas de señales de transducción de activación de células T (por ejemplo, las cascadas de CD28, CD40L, y CD2).

En muchos casos es posible revertir el rechazo agudo mediado por células mediante la intensificación de la inmunoterapia. Después de una inversión exitosa, los elementos severamente dañados del injerto se curan por fibrosis, y el resto del injerto luce normal. Después de la resolución del rechazo agudo, es posible reducir a niveles muy bajos las dosis de las drogas inmunosupresores.

El rechazo crónico, que es un problema particular en los trasplantes renales, frecuentemente progresa de manera insidiosa a pesar de una terapia inmunosupresora incrementada. Se cree que esto se debe en gran parte a la hipersensibilidad de Tipo IV mediada por las células. El perfil patológico difiere del perfil patológico del rechazo agudo. Interviene primariamente el endotelio arterial con una proliferación extensiva que puede gradualmente ocluir el lumen del vaso, lo que conduce a isquemia, fibrosis, una túnica íntima engrosada, y cambios ateroscleróticos. El rechazo crónico se debe principalmente a una obliteración progresiva de la vasculatura del injerto, y se asemeja a un proceso vasculítico lento.

En la hipersensibilidad de Tipo IV, las células T CD8 citotóxicas y las células T CD4 auxiliares reconocen el antígeno sintetizado sea intracelular sea extracelular cuando forma un complejo con moléculas MHC respectivamente de Clase I o de Clase II. Los macrófagos funcionan como células presentadoras de antígeno y liberan IL-1, lo que promueve la

proliferación de las células T auxiliares. Las células T auxiliares liberan interferón gamma e IL-2, los que conjuntamente regulan las reacciones de hiperactividad retardadas mediadas por la activación de macrófagos y la inmunidad mediada por las células T. En el caso de los trasplantes de órganos, las células T citotóxicas destruyen las células del injerto al entrar en contacto con las mismas.

5 Ya que las JAK quinasas desempeñan un rol crítico en la activación de las células T, los compuestos descritos en la presente pueden utilizarse para tratar y/o prevenir muchos aspectos del rechazo de trasplantes, y son particularmente útiles en el tratamiento y/o prevención de las reacciones de rechazo que son mediadas, por lo menos en parte, por las células T, tales como HVGR o GVHR. Los compuestos también pueden utilizarse para tratar y/o prevenir el rechazo crónico en los receptores de trasplante, y en particular, en los receptores de trasplantes renales. El compuesto también
10 puede administrarse a un tejido u órgano antes de transplantarse el tejido u órgano en el receptor del trasplante.

En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso un método para una enfermedad autoinmune mediada por células T, que comprende administrar a un paciente que adolezca de una enfermedad autoinmune tal una cantidad de un compuesto efectiva para tratar la enfermedad autoinmune, habiéndose seleccionado un compuesto entre los compuestos de la invención. En determinadas formas de realización de los métodos, la enfermedad autoinmune es la
15 esclerosis múltiple (MS, multiple sclerosis), psoriasis, o el síndrome de Sjögren. Tales enfermedades autoinmunes incluyen a título no limitativo aquellas enfermedades autoinmunes que frecuentemente llevan la designación de trastornos autoinmunes de órgano simple o de tipo de célula individual y aquellas enfermedades autoinmunes de las que frecuentemente se considera que en las mismas intervienen trastornos autoinmunes sistémicos. Los ejemplos no limitantes de enfermedades frecuentemente consideradas como trastornos autoinmunes de órganos simples o de tipos
20 de células individuales incluyen: la tiroiditis de Hashimoto, la anemia hemolítica autoinmune, la gastritis trófica autoinmune de la anemia perniciosa, la encefalomiелitis autoinmune, la orquitis autoinmune, la enfermedad de Goodpasture, la trombocitopenia autoinmune, la oftalmia simpática, myasthenia gravis, enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, hepatitis agresiva crónica, colitis ulcerante y glomerulopatía membranosa. Los ejemplos no limitantes de enfermedades que frecuentemente se clasifican por el hecho de implicar trastornos autoinmunes sistémicos, incluyen: la eritematosis de lupus sistémico, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, síndrome de Reiter, la polimiositis-dermatomiositis, esclerosis sistémica, poliarteritis nodosa, esclerosis múltiple y penfigoide bullosa. Las enfermedades autoinmunes adicionales que pueden estar basadas en células beta. (humoral) o basadas en células T, incluyen el síndrome de Cogan, espondilitis anquilosante, granulomatosis de Wegener, alopecia autoinmune, diabetes incipiente de Tipo I o juvenil, y tiroiditis.

30 En términos generales, los tipos de enfermedades autoinmunes que pueden tratarse o prevenirse con tales profármacos incluyen aquellos trastornos en las que interviene una lesión de los tejidos resultado de una respuesta humoral y/o mediada por células a los inmunógenos o antígenos de origen endógeno y/o exógeno. Tales enfermedades se consideran frecuentemente como enfermedades en las que intervienen las reacciones de hipersensibilidad no anafilácticas (es decir, de Tipo II, Tipo III y/o Tipo IV).

35 Por lo general, las reacciones de hipersensibilidad de Tipo I son el resultado de la liberación de sustancias farmacológicamente activas, tales como histamina, desde las células germinales y/o células basófilas después de su contacto con un antígeno exógeno específico. Como se mencionó en lo que precede, tales reacciones de Tipo I desempeñan un papel en numerosas enfermedades, que incluyen el asma alérgica, la rinitis alérgica, etc.

40 Las reacciones de hipersensibilidad de Tipo II (que también se designan como reacciones de hipersensibilidad citotóxicas, dependientes de complementos citolíticos o estimuladoras de células) se presentan cuando las inmunoglobulinas reaccionan con componentes antigénicos de células o de tejido, o con un antígeno o hapteno que ha llegado a acoplarse íntimamente a células o tejidos. Las enfermedades que se asocian comúnmente con las reacciones de hipersensibilidad de Tipo II incluyen a título no limitativo, la anemia hemolítica autoinmune, la eritroblastosis fetal y la enfermedad de Goodpasture.

45 Las reacciones de hipersensibilidad de Tipo III (que también llevan la denominación de reacciones de hipersensibilidad de complejo tóxico, de complejo soluble, o de inmunocomplejo) son el resultado de la deposición de complejos antígeno-inmunoglobulina soluble circulante en vasos o en tejidos, que acompañan reacciones inflamatorias agudas en el sitio de la deposición del complejo autoinmune. Los ejemplos, no limitantes de enfermedades de reacción de Tipo III prototípicos incluyen la reacción de Arthus, la artritis reumatoide, la enfermedad del suero, el lupus eritematoso sistémico,
50 determinados tipos de glomerulonefritis, esclerosis múltiple y penfigoide ampolloso.

Las reacciones de hipersensibilidad de Tipo IV (frecuentemente denominadas reacciones de hipersensibilidad del tipo celular, mediadas por células, retardadas o de tipo tuberculina) son causadas por linfocitos T sensibilizados que resultan

del contacto con un antígeno específico. Los ejemplos, no limitantes de enfermedades de las que se consideran que involucran reacciones de tipo IV, abarcan la dermatitis de contacto y el rechazo de aloinjerto.

Las enfermedades autoinmunes asociadas con cualquiera de las reacciones de hipersensibilidad no anafilácticas mencionadas arriba pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de acuerdo con las fórmulas estructurales (I). En particular, los métodos pueden utilizarse para tratar o prevenir aquellas enfermedades autoinmunes que se caracterizan frecuentemente como trastornos autoinmunes de órgano simple o de tipo de célula simple que incluyen a título no limitativo: tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica autoinmune, gastritis atrófica autoinmune de anemia perniciosa, encefalomielite autoinmune, orquitis autoinmune, enfermedad de Goodpasture, trombocitopenia autoinmune, oftalmia simpática, miastenia grave, enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, hepatitis agresiva crónica, colitis ulcerante y glomerulopatía membranosa, así como también aquellas enfermedades autoinmunes frecuentemente caracterizadas porque en las mismas interviene un trastorno autoinmune sistémico, que incluyen a título no limitativo: lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, síndrome de Reiter, polimiositis-dermatomiositis, esclerosis sistémica, poliarteritis nodosa, esclerosis múltiple y penfigoide ampollosa.

Los expertos en la técnica comprenderán que muchas de las enfermedades autoinmunes mencionadas están asociadas con síntomas severos, cuya mejoría provee un beneficio terapéutico significativo aún en aquellos casos en que no se mejore la enfermedad autoinmune subyacente.

La terapia en la cual se utilizan los compuestos descritos en la presente puede aplicarse sola, o puede aplicarse en combinación con o como adyuvante de otras terapias inmunosupresoras comunes, tales como, por ejemplo, los siguientes: mercaptopurina; corticosteroides tales como prednisona; metilprednisolona y prednisolona; agentes alquilantes tales como ciclofosfamida; inhibidores de calcineurina tales como la ciclosporina, sirolimus, y tacrolimus; los inhibidores de inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) tales como el micofenolato, micofenolato mofetil, y azatioprina; y los agentes diseñados para suprimir la inmunidad celular dejando intacta la respuesta inmunológica humoral del receptor; y que incluyen diversos anticuerpos (por ejemplo, globulina antilinfocito (ALG), globulina antitimocito (ATG), anticuerpos anti-célula T (OKT3)) y la irradiación. Estos diversos agentes puede utilizarse de acuerdo con sus dosis estándar o comunes, como se especifica en la información de prescripción que acompaña las formas comercialmente disponibles de las drogas (Véase también: la información de prescripción en la edición 2006 de The Physician's Desk Reference). La azatioprina es comercializada actualmente por Salix Pharmaceuticals, Inc., bajo la designación comercial AZASAN; la mercaptopurina es suministrada actualmente por Gate Pharmaceuticals, Inc., bajo la designación comercial PURINETHOL; la prednisona y la prednisolona son provistos actualmente por Roxane Laboratories, Inc.; la metil prednisolona es comercializada actualmente por Pfizer; el sirolimus (rapamicina) se comercializa por Wyeth-Ayerst bajo la designación comercial RAPAMUNE; el tacrolimus es comercializado actualmente por Fujisawa bajo la designación comercial PROGRAF; la ciclosporina es provista actualmente por Novartis bajo la designación comercial SANDIMMUNE y por Abbott bajo la designación comercial GENGRAF; los inhibidores de IMPDH tales como el micofenolato mofetil y el ácido micofenólico son provistos por Roche bajo la designación comercial CELLCEPT y por Novartis bajo la designación comercial MYFORTIC; la azatioprina la comercializa actualmente Glaxo Smith Kline bajo la designación comercial IMURAN; y los anticuerpos son actualmente comercializados por Ortho Biotech bajo la designación comercial ORTHOCLONE, por Novartis bajo la designación comercial SIMULECT (basiliximab), y por Roche bajo la designación comercial ZENAPAX (daclizumab). En otra forma de realización, los compuestos podrían administrarse bien en combinación o como adyuvante con un inhibidor de una syk quinasa. La syk quinasa es una tirosina quinasa de la que se sabe que desempeña un rol crítico en la señalización del receptor Fcγ, así como también en otras cascadas de señalización, tales como aquellas en las que está implicada la señalización del receptor de las células B (Turner et al., (2000), Immunology Today 21:148-154) e integrinas beta(1), beta (2), y beta (3) en neutrófilos (Mocsai et al., (2002), Immunity 16:547-558). Por ejemplo, la syk quinasa desempeña un papel pivotante en la señalización del receptor de IgE de elevada afinidad en las células germinales, lo que conduce a la activación y subsiguiente liberación de múltiples liberadores químicos que desencadenan ataques alérgicos. Sin embargo, a diferencia de las JAK quinastas, que ayudan a regular las trayectorias que intervienen en las reacciones de hipersensibilidad de Tipo IV retardadas o mediadas por células, la syk quinasa ayuda a regular las trayectorias que intervienen en las reacciones de hipersensibilidad de Tipo I mediadas inmediatamente por IgE. Por otra parte, hay determinados compuestos que influyen sobre la trayectoria del syk y que puede influir o no sobre las trayectorias de JAK.

Se describen compuestos inhibidores de syk adecuados por ejemplo, en el documento Ser. No. 10/355,543 presentada el 31 de enero de 2003 (Publicación no. 2004/0029902); WO 03/063794; Ser. No. 10/631,029 presentada el 29 de julio de 2003; WO 2004/014382; Ser. No. 10/903,263 presentada el 30 de julio de 2004; PCT/US2004/24716 presentada el 30 de julio de 2004 (WO005/016893); Ser. No. 10/903,870 presentada el 30 de julio de 2004; PCT/US2004/24920 presentada el 30 de julio de 2004; Ser. No. 60/630,808 presentada el 24 de noviembre de 2004; Ser. No. 60/645,424 presentada el 19 de enero de 2005; y Ser. No. 60/654,620, presentada el 18 de enero de 2005. Los compuestos y los

inhibidores de syk descritos de la presente podrían utilizarse solos o en combinación con uno o más tratamientos convencionales para el rechazo de trasplantes, como se describe lo que precede.

5 En una forma de realización específica, los compuestos pueden utilizarse para tratar o prevenir aquellas enfermedades en pacientes que o bien no responden inicialmente (son resistentes) o bien llegan a dejar de responder al tratamiento con un compuesto inhibidor del syk o a uno o más tratamientos actuales para la enfermedad en particular. Los compuestos también podrían utilizarse en combinación con compuestos inhibidores del syk en pacientes que son resistentes a los compuestos de syk o que no responden a los mismos. En lo que sigue se proveen compuestos inhibidores adecuados junto con los cuales pueden administrarse los compuestos.

10 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar una enfermedad autoinmune mediada por células T, que comprende administrar a un paciente que adolezca de una enfermedad autoinmune tal una cantidad de un compuesto efectivo para tratar la enfermedad autoinmune, habiéndose seleccionado el compuesto entre los compuestos de la invención descritos de la presente, y administrándose el compuesto en combinación o como adyuvante con un compuesto que inhibe la syk quinasa con una CI_{50} en el intervalo de por lo menos 10 μM .

15 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de trasplantes de aloinjerto en el receptor de un trasplante, que comprende administrar al receptor del trasplante un compuesto que es efectivo para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente. En otra forma de realización, se administra el compuesto a un tejido u órgano antes de transplantar el tejido u órgano en el receptor del trasplante.

20 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de un trasplante de aloinjerto en el receptor de un trasplante, siendo el rechazo un rechazo agudo, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención.

25 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de un trasplante de aloinjerto en receptor de un trasplante, siendo el rechazo un rechazo crónico, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención.

30 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo del trasplante de aloinjerto en el receptor de un trasplante, en el que el rechazo es mediado por HVGR o GVHR, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente.

35 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de un trasplante de un aloinjerto en el receptor de un trasplante, habiéndose seleccionado el trasplante de aloinjerto entre un riñón, un corazón, un hígado y un pulmón, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente.

40 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de un trasplante de aloinjerto en el receptor de un trasplante, en el que el trasplante de aloinjerto ha sido seleccionado entre un riñón, un corazón, un hígado y un pulmón, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, habiéndose seleccionado el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente, administrándose el compuesto en combinación o como adyuvante con otro inmunosupresor.

45 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir el rechazo de un trasplante de aloinjerto en el receptor de un trasplante, en donde el trasplante de aloinjerto ha sido seleccionado entre un riñón, un corazón, un hígado y un pulmón, que comprende administrar al receptor del trasplante una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir el rechazo, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente, y administrándose compuesto en combinación o como adyuvante con otro inmunosupresor, seleccionándose el inmunosupresor entre ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, un inhibidor de IMPDH, micofenolato, micofanolato mofetil, un anticuerpo anti células T, y OKT3.

50 Los compuestos descritos en la presente son moderadores de citoquina de la señalización de IL-4. Como consecuencia, los compuestos podrían ralentizar la respuesta de las reacciones de hipersensibilidad de Tipo I. Por lo tanto, en una

- 5 forma de realización específica, podrían utilizarse los compuestos para tratar tales reacciones y por ello las enfermedades asociadas con, mediadas por, o causadas por tales reacciones de hipersensibilidad (por ejemplo, las alergias), a título profiláctico. Por ejemplo, una persona que sufra de alergia podría tomar uno o más de los compuestos JAK selectivos descritos en la presente antes de la exposición prevista a los alérgenos, a efectos de retardar la iniciación o progreso de una respuesta alérgica, o para directamente eliminar dicha respuesta.
- 10 Cuando se utilizan para tratar o prevenir dichas enfermedades, los compuestos pueden administrarse aisladamente, como mezclas de uno más compuestos, o en forma de una mezcla o combinación con otros agentes útiles para tratar tales enfermedades y/o los síntomas asociados a dichos enfermedades. Los compuestos también pueden administrarse en mezcla o combinaciones con agentes útiles para tratar otros trastornos o enfermedades, tales como esteroides, estabilizadores de membranas, inhibidores de 5-lipoxigenasa (5LO), inhibidores de la síntesis y de los receptores de los leucotrienos, inhibidores de la conmutación del isotipo IgE o de la síntesis de IgE, beta-agonistas, inhibidores de triptasa, aspirina, inhibidores de ciclooxigenasa (COX), metotrexato, fármacos anti-TNF, anticuerpo anti CD20, inhibidores de PD4, inhibidores de p38, inhibidores de PDE4, y antihistaminas, para mencionar unos pocos. Los compuestos pueden administrarse de por sí en la forma de profármacos o como composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto activo o profármaco.
- 15 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una reacción de hipersensibilidad de Tipo IV, que comprende administrar a un sujeto una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir la reacción de hipersensibilidad, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente.
- 20 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una reacción de hipersensibilidad de Tipo IV, que es práctico desde el punto de vista profiláctico, que comprende administrar a un sujeto una cantidad de un compuesto efectiva para tratar o prevenir la reacción de hipersensibilidad, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente, y se administra antes de la exposición a un alérgeno.
- 25 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para inhibir la transducción de una cascada de señales en la que la JAK3 quinasa desempeña un rol, que comprende poner en contacto una célula que expresa un receptor que interviene en una cascada de señalizaciones de este tipo, con un compuesto, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente.
- 30 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad mediada por la JAK quinasa, que comprende administrar a un sujeto una cantidad de compuesto efectiva para tratar o prevenir la enfermedad mediada por la JAK quinasa, seleccionándose de compuesto entre los compuestos de esta invención descritos en la presente.
- 35 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad mediada por la JAK quinasa, estando la enfermedad mediada por la JAK el HVGR o GVHR, que comprende administrar a un sujeto una cantidad de compuesto efectiva para tratar o prevenir la enfermedad mediada por la JAK quinasa, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente.
- 40 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad mediada por la JAK quinasa, siendo la enfermedad mediada por la JAK el rechazo agudo de un aloinjerto, que comprenden administrar a un sujeto una cantidad de compuesto efectiva para tratar o prevenir la enfermedad mediada por la JAK quinasa, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente.
- 45 En otra forma de realización, esta invención provee compuestos para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad mediada por la syk quinasa, siendo la enfermedad mediada por la JAK el rechazo crónico de un aloinjerto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad de compuesto efectiva para tratar o prevenir la enfermedad mediada por la JAK quinasa, seleccionándose el compuesto entre los compuestos de la invención descritos en la presente.
- Típicamente, los compuestos activos de la invención inhiben la trayectoria de syk. La actividad de un compuesto especificado como un inhibidor de una syk quinasa puede evaluarse in vitro o in vivo. En algunas formas de realización, la actividad de un compuesto especificado puede ensayarse en un ensayo celular.
- 50 La expresión "trastorno de proliferación de células" se refiere a un trastorno caracterizado por la proliferación anormal de células. La expresión "trastorno de proliferación" no implica ninguna limitación con respecto a la velocidad del desarrollo

de las células; simplemente implica una pérdida de los controles normales que influyen sobre el desarrollo y división de las células. Por lo tanto, en algunas formas de realización, las células de un trastorno de proliferación pueden tener las mismas velocidades de división que las células normales pero no responden a las señales que limiten tal desarrollo. Dentro del ámbito de "trastorno de proliferación de células" se encuentra un neoplasma o tumor, que es el desarrollo anormal de un tejido. La expresión "cáncer" se refiere a cualquiera de entre diversos neoplasmas malignos caracterizados por la proliferación de células que tienen la capacidad de invadir el tejido rodeante y/o de hacer metástasis en nuevos sitios de colonización.

En términos generales, los trastornos de proliferación que pueden ser tratados con los compuestos revelados en la presente, se refieren a cualquier trastorno caracterizado por la proliferación aberrante de células. Los mismos incluyen diversos tumores y cánceres, benignos o malignos, que produce metástasis o no. Es posible apuntar a las propiedades específicas de los cánceres, tales como la invasión de los tejidos o la metástasis, mediante los métodos descritos en la presente. Los trastornos de células proliferantes incluyen una variedad de cánceres que incluyen, entre otros, cáncer ovárico, cáncer renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer pancreático, carcinoma escamoso de los pulmones, y adenocarcinoma.

En algunas formas de realización, el trastorno de las células proliferantes tratado es un neoplasma hematopoyético, que es un desarrollo aberrante de las células del sistema hematopoyético. Las enfermedades hematopoyéticas malignas pueden tener sus orígenes en células germinales pluripotentes, células progenitoras multipotentes, células progenitoras dedicadas oligopotentes, células precursoras, y células terminalmente diferenciadas que intervienen en la hematopoyesis. Se cree que algunas enfermedades hematológicas malignas surgen de células germinales hematopoyéticas, que tienen la capacidad de su autorrenovación. Por ejemplo, las células capaces de desarrollar subtipos específicos de leucemia mieloide aguda (AML) (Cynthia K. Hahn, Kenneth N. Ross, Rose M. Kakoza, Steven Karr, Jinyan Du, Shao-E Ong, Todd R. Golub, Kimberly Stegmaier, Syk is a new target for AML differentiation, *Blood*, 2007, 110, Abstract 209) al ser transplantadas presentan los marcadores celulares superficiales de las células germinales hematopoyéticas, lo que implica las células germinales hematopoyéticas como la fuente de células leucémicas. Las blastocélulas que no tengan un marcador de células característico de las células germinales hematopoyéticas no parecen tener la capacidad de establecer tumores cuando se las transplanta (Blair et al., 1997, *Blood* 89:3104-3112). El origen celular germinal de determinadas enfermedades hematológicas malignas también encuentra un respaldo en la observación de que las anomalías cromosómicas específicas asociadas con tipos particulares de leucemia también pueden encontrarse en células normales así como también en blastocélulas leucémicas. Por ejemplo, la translocación recíproca t(9q34;22q11) asociada con aproximadamente el 96% de leucemia mielógena crónica parece estar presente en las células de cepas mieloide, eritroide y linfoide, lo que sugiere que la aberración cromosómica se origina en las células germinales hematopoyéticas. Un subgrupo de células en determinados tipos de CML presenta el fenotipo de marcador de células germinales hematopoyéticas.

Si bien los neoplasmas hematopoyéticos se originan frecuentemente a partir de células germinales, las células progenitoras dedicadas o las células más terminalmente diferenciadas de un linaje de desarrollo, también pueden ser la fuente de algunas leucemias. Por ejemplo, la expresión forzada de la proteína de fusión Bcr/Abl (asociada con leucemia mielógena crónica en células progenitoras mieloides comunes o de granulocito/macrófago) produce una condición similar a leucemia. Además, algunas aberraciones cromosómicas asociadas con subtipos de leucemia no se hallan en la población de células con un fenotipo marcador de células germinales hematopoyéticas, pero se los encuentra en una población de células que presentan marcadores de un estado más diferenciado de la trayectoria hematopoyética (Turhan et al., 1995, *Blood* 85:2154-2161). Por lo tanto, si bien las células progenitoras dedicadas y otras células diferenciadas puede tener solamente un potencial limitado para la división de células, las células leucémicas pueden haber adquirido la capacidad de desarrollarse de manera no regulada, y en algunos casos imitan las características de las células germinales hematopoyéticas (Passegue et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100:11842-9).

En algunas formas de realización, el neoplasma hematopoyético tratado es un neoplasma, en donde las células anormales se han derivado de y/o presentan el fenotipo característico de la cepa linfoide. Los neoplasmas linfoides pueden dividirse en neoplasmas de células B, neoplasmas de células T y NK, y linfoma de Hodgkin. Por su parte, los neoplasmas de las células B pueden subdividirse en neoplasma de células B precursoras y neoplasma de células B maduras/periféricas. Entre los neoplasmas de células B dados a título de ejemplo se encuentra la leucemia/linfoma linfoblástico B precursora (linfoma linfoblástico agudo de las células B precursoras) mientras que entre los neoplasmas de células B maduras/periférica dado a título de ejemplo se encuentra el linfoma linfoblástico de leucemia linfocítica crónica de las células B/linfocítico pequeño, la leucemia prolinfocítica de las células B, el linfoma linfoplasmático, el linfoma de las células B de la zona esplénica marginal, la leucemia de las células vellosas, el mieloma/plasmacitoma de las células del plasma, el linfoma de las células B de la zona marginal extranodal de tipo MALT, el linfoma de las células B de la zona marginal nodal, el linfoma folicular, el linfoma de las células de manto, el linfoma de las células B mediastinales, el linfoma de efusión primaria, y el linfoma de Burkitt/ leucemia de células de Burkitt. Por otra parte, los neoplasmas de las

células T y Nk se subdividen en neoplasma de células T precursoras y neoplasma de las células T maduras (periféricas). Los ejemplos de neoplasmas de células T precursoras abarcan el linfoma/leucemia linfoblástico T precursora (leucemia linfoblástica aguda de las células T precursoras) mientras que los ejemplos de neoplasmas de células T maduras (periférica) abarcan la leucemia linfocítica granular de las células T, la leucemia agresiva de las células NK, el linfoma/leucemia de las células T adultas (HTLV-1), el linfoma de las células NK/T extranodales, el linfoma de las células T de tipo nasal, de tipo enteropatía, el linfoma de las células T gamma -delta hepatoesplénicas, el linfoma de las células T similar a paniculitis subcutánea, el síndrome Mycosis fungoides/Sezary, el linfoma anaplástico de las células grandes, el linfoma de las células T periféricas, de células T/cero, cutánea primarias, el linfoma de las células T periféricas, no caracterizadas de alguna otra manera, el linfoma angioinmunoblástico de las células T, el linfoma anaplástico de las células grandes, de tipo células T/cero, sistémicas primarias. El tercer miembro de los neoplasmas linfoides es el linfoma de Hodgkin, también conocido como enfermedad de Hodgkin. Los diagnósticos de esta clase dados a título de ejemplo, que pueden tratarse con los compuestos incluyen, entre otros, el linfoma de Hodgkin con predominio de linfocitos nodulares, y diversas formas clásicas de la enfermedad de Hodgkin, entre los cuales a título de ejemplo puede mencionarse el linfoma nodular de esclerosis de Hodgkin (tipos 1 y 2), el linfoma clásico rico en linfocitos de Hodgkin, el linfoma de celularidad mixta de Hodgkin, y el linfoma de agotamiento de linfocitos de Hodgkin. En diversas formas de realización, cualquiera de los neoplasmas linfoides que esté asociados con una actividad aberrante de JAK puede tratarse con los compuestos inhibidores de syk.

En algunas formas de realización, el neoplasma hematopoyético tratado es un neoplasma mielóide. Este grupo comprende una gran clase de trastornos proliferativos de células en los que interviene o se exhibe el fenotipo característico de las células de la cepa mielóide. Los neoplasmas mieloides pueden subdividirse en enfermedades mieloproliferativas, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, y leucemias mieloides agudas. Las enfermedades mieloproliferativas abarcan por ejemplo la leucemia mielógena crónica (por ejemplo, la leucemia de cromosoma Filadelfia positivo (t(9;22)(qq34;q11)), la leucemia neutrófila crónica, el síndrome de la leucemia eosinófila crónica/hipereosinófila, la mielofibrosis idiopática crónica, la policitemia vera, y la trombocitopenia esencial. Las enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas abarcan por ejemplo la leucemia mielomonocítica crónica, la leucemia mielógena crónica, y la leucemia mielomonocítica juvenil. Los síndromes mielodisplásicos dados a título de ejemplo abarcan la anemia refractaria, con sideroblastos anulares y sin sideroblastos anulares, la citopenia refractaria (síndrome mielodisplásico) con displasia multicépa, la anemia refractaria (síndrome mielodisplásico) sin blastos en exceso, el síndrome 5q, y el síndrome mielodisplásico. En diversas formas de realización, cualquiera de los neoplasmas mieloides que están asociados con la actividad aberrante de syk, pueden ser tratados con los compuestos inhibidores de syk.

En algunas formas de realización, los compuestos pueden utilizarse para tratar leucemias mieloides agudas (AML) que representan una gran clase de neoplasmas mieloides que tiene su propia subdivisión de trastornos. Estas subdivisiones incluyen, entre otros, AMLs con traslocaciones citogénicas recurrentes, AML con displasia multicépa, y otros AML que no están categorizados de otra manera. Los AMLs con traslocaciones citogénicas recurrentes incluyen entre otros AML con t(8;21)(q22;q22), AML1(CBF-alfa)/ETO, leucemia promielocítica aguda (AML con t(15;17)(q22;q11-12) y variantes, PML/RAR-alpha), AML como eosinófilos de médula de hueso anormales (inv(16)(p13q22) o t(16;16)(p13;q11), CBFb/MYH11X), y AML con anomalías 11q23 (MLL). Los AML dados a título de ejemplo con displasia multilineal son aquellos que están asociados con o sin síndrome mielodisplásico anterior. Las otras leucemias mieloides agudas no clasificados dentro del grupo definible incluyen AML mínimamente diferenciado, AML sin maduración, AML con maduración, leucemia mielocítica aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia megacariocítica aguda, leucemia basófila aguda, y panmielosis aguda con mielofibrosis.

Dentro del contexto de la presente invención, el término "tratamiento" se refiere a un alivio de los síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o por otra parte a una detención del avance o empeoramiento de dichos síntomas, o a la prevención y profilaxis de la enfermedad o trastorno.

La expresión "mamífero" incluye los organismos que expresan el syk. Los ejemplos de mamíferos incluyen ratones, ratas, vacas, ovejas, porcinos, caprinos, caballos, osos, monos, perros, gatos y preferiblemente seres humanos. En esta definición se incluyen también los organismos transgénicos que expresan el syk.

Los métodos comprenden administrar una cantidad efectiva de compuesto o composición descritos en la presente a un mamífero o a un animal no humano. Tal como se utiliza en la presente, la expresión "cantidad efectiva" de un compuesto o composición de la invención incluye aquellas cantidades que antagonizan o inhiben el syk. Una cantidad que antagonice o inhiba el syk puede detectarse por ejemplo mediante cualquier ensayo capaz de determinar la actividad del syk, lo que incluye el descrito más adelante como un método de ensayo ilustrativo. Las cantidades efectivas pueden también incluir aquellas cantidades que alivian los síntomas de un trastorno de syk asociado tratable mediante la inhibición del syk. Por lo tanto, la expresión "antagonistas de syk" incluye los compuestos que interactúan con el syk, y que modulan, por ejemplo, inhiben o disminuyen, la capacidad de un segundo compuesto, por ejemplo, otro ligando de

5 syk, para interactuar con el syk. Los compuestos que se ligan al syk son preferiblemente antagonistas del syk. La expresión "compuesto que se liga al syk" (por ejemplo, que exhibe una afinidad de ligación con respecto al receptor) incluye aquellos compuestos que interactúan con el syk, siendo el resultado la modulación de la actividad del syk. Los compuestos que se ligan al syk pueden identificarse mediante un método *in vitro* (por ejemplo, basado en células y no basado en células) o *in vivo*. En lo que sigue se da una descripción de los métodos *in vitro*.

10 La cantidad de compuesto presente en los métodos y composiciones descritos en la presente deberían ser suficientes para causar una disminución detectable en la gravedad del trastorno, medida mediante cualquiera de los ensayos descritos en los ejemplos. La cantidad necesaria de modulador de syk dependerá de la efectividad del modulador para el tipo de células dado y de la duración de tiempo requerida para tratar el trastorno. Por otra parte, en determinadas formas de realización, las composiciones de esta invención pueden comprender otro agente terapéutico. Si se utiliza un segundo agente, es posible administrar el segundo agente sea en forma de una dosis por separado sea como parte de una dosis individual con los compuestos o composiciones de esta invención. Si bien es posible utilizar uno o más de los compuestos inventivos en una aplicación de monoterapia para tratar un trastorno, enfermedad o síntoma, también pueden utilizarse en una terapia de combinación, en la que el uso del compuesto o composición de acuerdo con la invención (agente terapéutico) se combina con el uso de uno o más agentes terapéuticos para tratar el mismo tipo, y/o otros tipos de trastornos, síntomas y enfermedades. La terapia de combinación incluye la administración de los dos o más agentes terapéuticos simultáneamente o secuencialmente. Los agentes pueden ser administrados en cualquier orden. Como alternativa, los múltiples agentes terapéuticos pueden combinarse en forma de una única composición que puede ser administrada al paciente. Por ejemplo, una composición farmacéutica simple podría comprender el compuesto o un tautómero del mismo o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la fórmula I, otro agente terapéutico (por ejemplo, metotrexato) o un tautómero del mismo o una sal, éster o profármaco, farmacéuticamente aceptables de los mismos, y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 La invención comprende un compuesto que tiene la fórmula I, un método para preparar un compuesto inventivo, un método para preparar una composición farmacéutica a partir de al menos un compuesto inventivo y al menos un vehículo o excipientes farmacéuticamente aceptables, y un método para utilizar uno más compuestos a efectos de tratar una variedad de trastornos, síntomas y enfermedades (por ejemplo, inflamatorias, autoinmunes, neurológicas, neurodegenerativas, oncológicas y cardiovasculares), tales como RA, osteoartritis, IBD (irritable bowel disease, enfermedad del intestino irritable), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica COPD y MS. Los compuestos de acuerdo con la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables y/o las composiciones neutras que pueden formularse junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptables, y la composición resultante, puede ser administradas *in vivo* a mamíferos, tales como hombres, mujeres y animales, para tratar una variedad de trastornos, síntomas y enfermedades. Por otra parte, los compuestos inventivos pueden utilizarse para preparar un medicamento que es útil para tratar una variedad de trastornos, síntomas y enfermedades.

35 La totalidad de los compuestos de la presente invención son bien inhibidores potentes de las syk quinasas, que presentan IC_{50} s en el respectivo ensayo en el intervalo de menos de 5 μ M, estando la mayoría de ellos en el intervalo nanomolar, y estando varios de ellos en el intervalo sub-nanomolar. En algunas formas de realización, los compuestos de la presente invención pueden ser inhibidores "duales" de syk/JAK ya que inhiben tanto la syk como la JAK quinasa en algún grado. En otras formas de realización, los compuestos de la presente invención pueden selectivamente inhibir las syk quinasas, pero no inhibir de manera apreciable una o más JAK quinasas. En otras formas de realización, los compuestos de la presente invención pueden inhibir de manera selectiva la JAK quinasa, pero no inhibir de manera apreciable una o más syk quinasas.

f. Kits

45 Otro aspecto más de la invención consiste en proveer un kit que comprende contenedores separados en un solo envase, en donde los compuestos farmacéuticos inventivos, sus composiciones y/o sales de las mismas, se utilizan en combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables, para tratar estados, trastornos, síntomas y enfermedades en los cuales el syk desempeña un rol.

I. EJEMPLOS y EJEMPLOS DE REFERENCIA

Se ofrecen los siguientes ejemplos a efectos de ilustrar la invención reivindicada, pero no para limitarla.

50 Los materiales de partida y reactivos de acuerdo con la invención utilizados en la preparación de estos compuestos se encuentran por lo general disponibles en el comercio por intermedio de proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Co., o se preparan mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica siguiéndose los procedimientos establecidos en referencias tales como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: Nueva York,

1967-2004, Volúmenes 1-22; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, Volúmenes 1-5 y Suplementos; y Organic Reactions, Wiley & Sons: Nueva York, 2005, Volúmenes 1-65.

5 Si se desea, los materiales de partida y los compuestos intermedios de los esquemas de las reacciones de síntesis pueden aislarse y purificarse mediante técnicas convencionales que incluyen a título no limitativo: filtración, destilación, cristalización, cromatografía y similares. Dichos materiales pueden caracterizarse mediante medios convencionales que incluyen constantes físicas y datos espectrales.

10 A menos que se especifique otra cosa, las reacciones descritas en la presente se llevan preferentemente a cabo bajo una atmósfera inerte a presión atmosférica y en un intervalo de temperaturas de reacción de aproximadamente -78°C a aproximadamente 150°C, más preferentemente de aproximadamente 0°C a aproximadamente 125°C, y más preferiblemente y convenientemente a temperatura ambiente, por ejemplo, de aproximadamente 20°C a aproximadamente 75°C.

Con referencia a los siguientes ejemplos, los compuestos de la presente invención fueron sintetizados mediante los métodos descritos la presente, o con otros métodos, que son bien conocidos en la técnica.

15 Los compuestos y/o compuestos intermedios pueden caracterizarse mediante HPLC (high performance liquid chromatography, cromatografía de líquidos de alta resolución), para lo cual se utiliza un sistema de cromatografía Waters Alliance con un Módulo de Separación 2695 (Milford, Mass.). Las columnas analíticas pueden ser columnas C-18 SpeedROD RP-18E de Merck KGaA (Darmstadt, Alemania). Como alternativa, la caracterización puede llevarse a cabo mediante un sistema de Waters Unity (UPLC) con columnas Waters Acquity UPLC BEH C-18 2,1 mm x 15 mm. Puede utilizarse un gradiente para la elución, empezándose típicamente con 5% de acetonitrilo/95% de agua y continuándose hasta 95% de acetonitrilo sobre un intervalo de tiempo de 15 minutos para el sistema Alliance y 1 minuto para el sistema Acquity. Todos los solventes pueden contener ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1%. Los compuestos pueden detectarse mediante absorción de luz ultravioleta (UV) a sea 220 sea 254 nm. Los solventes de HPLC pueden ser de EMD Chemicals, Inc. (Gibbstown, NJ). En algunos casos es posible evaluar la pureza mediante cromatografía de capa fina (TLC, thin layer chromatography), para lo cual se utilizan placas de gel de sílice con respaldo de vidrio tales como, por ejemplo, placas de Gel de Sílice EMD 60 2,5 cm x 7,5 cm. Los resultados de la TLC pueden detectarse fácilmente bajo la luz ultravioleta, o mediante el empleo de otras técnicas muy conocidas de tinción con vapor de yodo y otras técnicas de tinción.

30 Los análisis de espectrometría de masa pueden llevarse a cabo en uno de dos instrumentos de Agilent 1100 serie LCMS y con el sistema Acquity con acetonitrilo / agua como fase móvil. En un sistema puede utilizarse TFA como el modificador y medir en modo ion positivo [informado como MH⁺, (M+1) o (M+H)⁺], y en el otro puede utilizarse sea ácido fórmico sea acetato de amonio y medirse en modos de ión tanto positivo [informado como MH⁺, (M+1) o (M+H)⁺] y negativo [informado como M⁻, (M-1) o (M-H)].

35 Puede llevarse a cabo el análisis de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) sobre alguno de los compuestos con un Varian 400 MHz NMR (Palo Alto, Calif.). La referencia espectral puede ser sea TMS sea el desplazamiento conocido del solvente.

Es posible evaluar la pureza de algunos compuestos de la invención mediante análisis elemental (Robertson Microlit, Madison NJ.).

Los puntos de fusión pueden determinarse en un aparato de Laboratory Devices Mel-Temp (Holliston, Mass.).

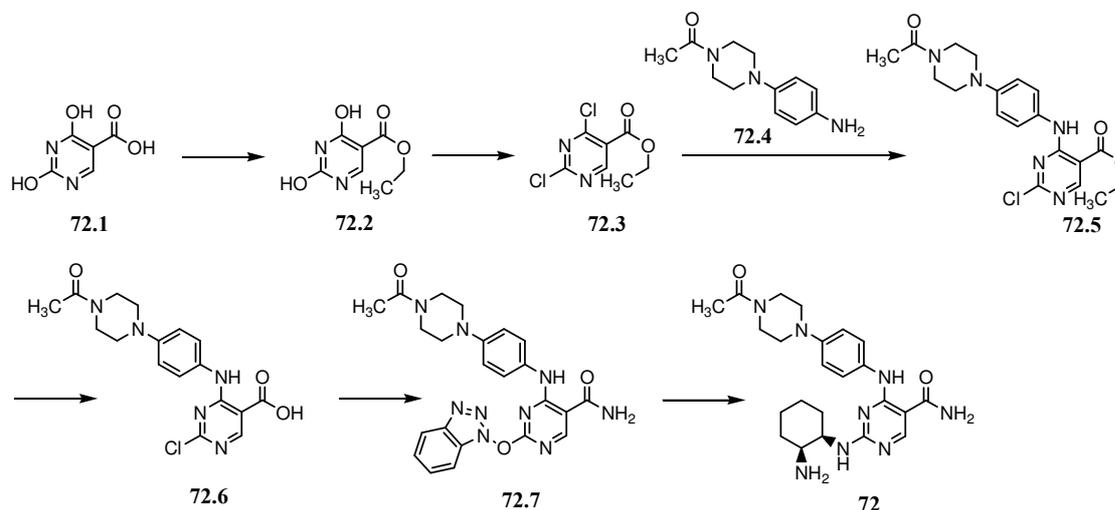
40 Las separaciones preparativas pueden llevarse a cabo en función de necesidad, sea utilizando un sistema de cromatografía Sq16x sea Sg100c y columnas de gel de sílice preempaquetadas, todo ello comprado a Teledyne Isco, (Lincoln, NE). Como alternativa, los compuestos y los compuestos intermedios pueden ser purificados mediante cromatografía de columna de flash por medio de la utilización de material de empaque tado de gel de sílice (malla 230-400), o mediante HPLC, para lo cual se utiliza una columna de fase inversa C-18. Los solventes típicos empleados para los sistemas Isco y para la cromatografía de columnas de flash pueden ser diclorometano, metanol, acetato de etilo, hexano, acetona, hidroxiamina acuosa y trietilamina. Los solventes típicos utilizados para la HPLC de fase inversa pueden tener concentraciones variables de acetonitrilo y agua con ácido trifluoroacético al 0,1%.

Métodos Generales

Los siguientes esquemas de reacciones de síntesis son meramente ilustrativos de algunos métodos mediante los cuales es posible sintetizar los compuestos de la invención; es posible efectuar diversas modificaciones en estos esquemas de

reacción de síntesis, y estas modificaciones serán evidentes para un experto en la técnica que haga referencia a la revelación contenida en esta solicitud.

Ejemplo de Referencia 1. 4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

Etapa 1: A una solución agitada de ácido carboxílico **72.1** (85 g, 540 mmoles) en cloruro de tionilo (425 mL) se añadió piridina (8,5 mL, 0,11 mmoles) lentamente. La reacción se agitó a 75°C durante lo cual se concentró y se secó al vacío en un polvo amarillo claro. Este sólido amarillo lentamente se diluyó con 750 mL de etanol y se calentó a reflujo. Al día siguiente, se determinó que la reacción estaba completa por medio de HPLC y luego se enfrió en un baño de hielo y el sólido se filtró y se lavó con éter dietílico para dar como resultado éster etílico **72.2** en forma de un polvo blanquecino (91 g, 87% para dos etapas). MS experimental para $C_7H_8N_2O_4$ como $(M+H)^+$ 185,0.

10

Etapa 2: El éster **72.2** (22 g, 120 mmoles) se disolvió en oxicluro de fósforo (60 mL, 600 mmoles) y la mezcla se trató con N,N-dietilanilina (27 mL, 167 mmoles) y la mezcla se calentó hasta 105°C hasta que la reacción se determinó completa por HPLC. Luego se enfrió hasta temperatura ambiente y lentamente se añadió a 1 L de hielo picado dando como resultado la formación de un precipitado beige que se recogió por filtración y se secó al vacío para dar como resultado dicloruro **72.3** en forma de un polvo amarillo claro (22,5 g, 85%). 1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9,13 (s, 1H), 4,37 (q, 2H), 1,32 (t, 3H).

15

Etapa 3: Dicloropirimidina **72.3** (500 mg, 2,3 mmoles) se disolvió en NMP (10 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadió una solución de anilina **72.4** (540 mg, 2,5 mmoles) y etilidiisopropilamina (DIEA, 0,82 mL, 4,6 mmoles) en 10 mL de NMP gota a gota usando un embudo adicional. La mezcla se agitó durante 1 hora, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se concentró y se sometió a columna flash para aislar el compuesto **72.5** en forma de un sólido blanco (905 mg, 97%). MS experimental para $C_{19}H_{22}CN_5O_3$ como $(M+H)^+$ 404,1.

20

Etapa 4: El éster etílico **72.5** (5 mg, 2,2 mmoles) se disolvió en 100 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (190 mg, 4,4 mmoles) y 10 mL de agua. La mezcla se agitó durante 1 hora y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 3. La mezcla se concentró al vacío para eliminar THF. El sólido blanco se trituró y se aisló usando un embudo de Büchner. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **72.6** (900 mg, 99%) en forma de un sólido blanco. MS experimental para $C_{17}H_{18}CN_5O_3$ como $(M+H)^+$ 376,1.

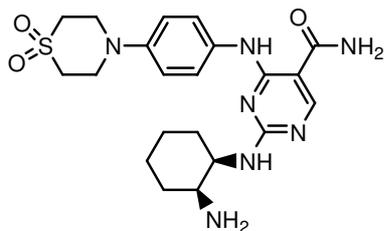
25

Etapa 5: Ácido carboxílico **72.6** (900 mg, 2,2 mmoles) se disolvió en 30 mL de NMP. A ello se añadieron hidrocloreto de EDC (690 mg, 3,6 mmoles) e hidrato de HOBt (490 mg, 3,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 24 mL, 12 mmoles). La mezcla se agitó. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y cloroformo. La fase de cloroformo se separó y se lavó con salmuera cuatro veces. La fase de cloroformo luego se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para obtener el compuesto **72.7** en forma de un sólido amarillo claro (720 mg, 63%). MS experimental para $C_{23}H_{23}N_9O_3$ como $(M+H)^+$ 474,2.

30

Etapa 6: Éter de benzotriazolilo **72.7** (100 mg, 0,21 mmoles) se disolvió en 3 mL de DMSO. A ello se añadió cis-1,2-diaminociclohexano (124 μ L, 1,05 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 hora en baño a 120°C en un recipiente sellado. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **72**. MS experimental para $C_{23}H_{32}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 453,2. UV $\lambda=240, 297$ nm.

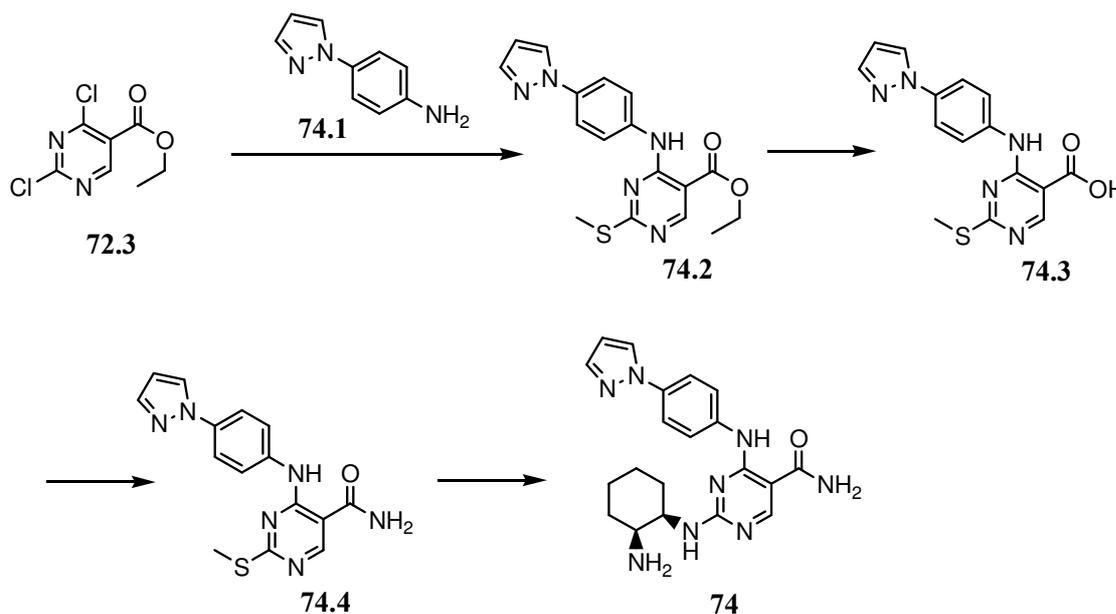
5 Ejemplo de Referencia 2. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1,1-dioxo)tiomorfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 4-(1,1-dioxo)tiomorfolinoanilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{21}H_{29}N_7O_3S$ como $(M+H)^+$ 460,2. UV $\lambda=236, 312$ nm.

10

Ejemplo 3. 4-(4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

Etapa 1: Dicloropirimidina **72.3** (1,12 g, 5,05 mmoles) se disolvió en 60 mL de DMF y se agitó a temperatura ambiente. A ello se añadieron 4-(1H-pirazol-1-il)anilina **74.1** (0,96 g, 6,1 mmoles) en una porción y etilidiisopropilamina (DIEA, 1,58 mL, 9,1 mmoles) gota a gota usando una jeringa. La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. A ello se añadió luego tiometóxido de sodio (885 mg, 12,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces, se secó sobre $MgSO_4$, se concentró al vacío y se sometió a columna flash para obtener el compuesto **50.2** en forma de un sólido blanco. MS experimental para $C_{17}H_{17}N_5O_2S$ como $(M+H)^+$ 356,1.

20

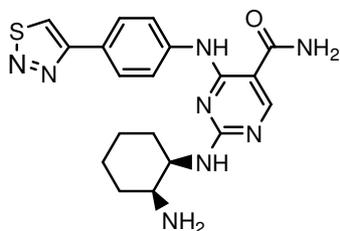
Etapa 2: El éster etílico **74.2** de la Etapa 1 se disolvió en 200 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (424 mg, 10,1 mmoles) y 20 mL de agua. La mezcla se agitó durante 2 días a temperatura ambiente. Se concentró al vacío para eliminar THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Se trituró un sólido blanco de la

solución. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **74.3** (1,12 g, 68% para 2 etapas). MS experimental para $C_{15}H_{13}N_5O_2S$ como $(M+H)^+$ 328,1.

5 Etapa 3: Ácido carboxílico **74.3** (1,12 g, 3,4 mmoles) se disolvió en 60 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreto de EDC (0,98 g, 5,1 mmoles) e hidrato de HOBt (0,69 g, 5,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 34 mL, 17 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas. Luego se concentró al vacío para eliminar dioxano. A ello se añadió 300 mL de agua. Se trituró un sólido amarillo claro. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **74.4** (1,12 g, 99%). MS experimental para $C_{15}H_{14}N_6OS$ como $(M+H)^+$ 327,1.

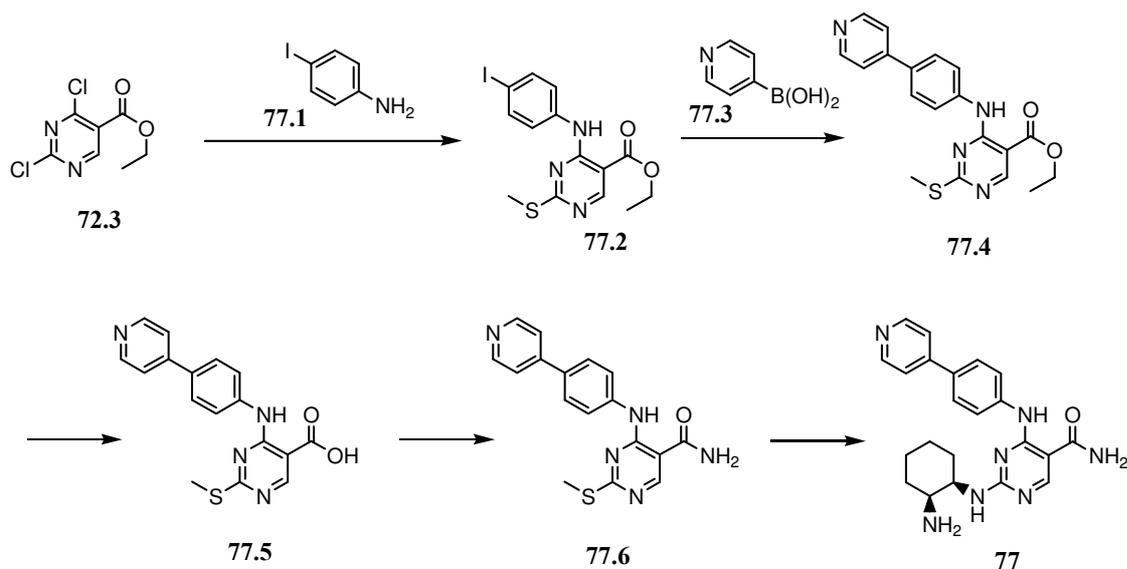
10 Etapa 4: El compuesto **74.4** (50 mg, 0,15 mmoles) se disolvió en 4 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65%puro, 45 mg, 0,17 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadieron luego cis-1,2-diaminociclohexano (53 μ L, 0,45 mmoles) y DIEA (78 μ L, 0,45 mmoles). La mezcla se agitó durante 50 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **74**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 393,2. UV $\lambda=239, 304$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,41 (s, 1H), 8,12 (m, 1H), 7,70 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,63 (d, J=7,2 Hz, 2H), 7,62 (s, 1H), 6,43 (dd, J=2,4, 2,0 Hz, 1H), 4,27 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 1,83-1,45 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 4. 4-(4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



20 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 3 con 4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 411,2. UV $\lambda=231, 311$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,24 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,15 (d, J=5,6 Hz, 2H), 7,84 (m, 2H), 4,43 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 1,91-1,60 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 5. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Etapa 1: La dicloropirimidina **72.3** (3,02 g, 13,6 mmoles) se disolvió en 100 mL de DMF y se agitó a temperatura ambiente. A ello se añadieron 4-yodoanilina **77.1** (3,59 g, 16,3 mmoles) en una porción y etildiisopropilamina (DIEA, 4,25 mL, 24,4 mmoles) gota a gota usando una jeringa. La mezcla se agitó durante 2,5 horas a temperatura ambiente. A ello se añadió luego tiometóxido de sodio (2,38 g, 34 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces, se secó sobre MgSO₄, se trató con carbón activado, se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **77.2** en forma de un sólido marrón claro (4,50 g, 79%). MS experimental para C₁₄H₁₄IN₃O₂S como (M+H)⁺ 416,1.

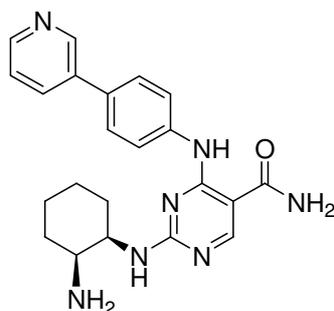
10 Etapa 2: El yodobenceno **77.2** (620 mg, 1,5 mmoles) se disolvió en 20 mL de dioxano y 10 mL de agua. A ello se añadieron ácido borónico **77.3** (406 mg, 3,3 mmoles), Na₂CO₃ (480 mg, 4,5 mmoles) y Pd(PPh₃)₂Cl₂ (211 mg, 0,3 mmoles). La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 minutos y se agitó en baño de 85°C bajo argón durante 1 hora. La mezcla se concentró y se diluyó con cloroformo. Se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se concentró y se sometió a columna flash para aislar el compuesto **77.4** (300 mg, 55%). MS experimental para C₁₉H₁₈N₄O₂S como (M+H)⁺ 367,1.

15 Etapa 3: El éster etílico **77.4** (300 mg, 0,82 mmoles) se disolvió en 30 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (104 mg, 2,46 mmoles) y 10 mL de agua. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se concentró al vacío para eliminar THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Se trituró un sólido amarillo claro de la solución. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **77.5** (250 mg, 90%). MS experimental para C₁₇H₁₄N₄O₂S como (M+H)⁺ 339,1.

20 Etapa 4: El ácido carboxílico **77.5** (250 mg, 0,74 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreuro de EDC (213 mg, 1,1 mmoles) e hidrato de HOBt (150 mg, 1,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 7,4 mL, 3,7 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche. Luego se concentró al vacío para eliminar dioxano. A ello se añadió agua 100 mL. Se trituró un sólido amarillo claro. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **77.6** (230 mg, 92%). MS experimental para C₁₇H₁₅N₅OS como (M+H)⁺ 338,1.

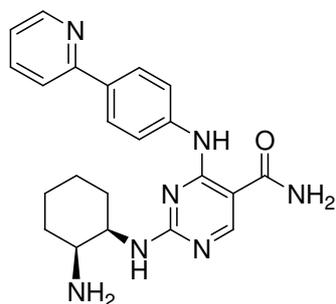
25 Etapa 5: El compuesto **77.6** (25 mg, 0,074 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 22 mg, 0,081 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadió luego cis-1,2-diaminociclohexano (70 µL, 0,60 mmoles). La mezcla se agitó durante 30 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **77**. MS experimental para C₂₂H₂₅N₇O como (M+H)⁺ 404,2. UV λ=238, 337 nm.

30 Ejemplo 6. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



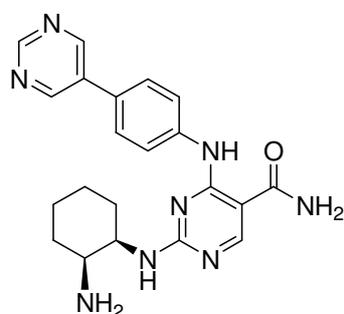
El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 con ácido piridin-3-borónico para reemplazar ácido piridin-4-borónico **77.3**. MS experimental para C₂₂H₂₅N₇O como (M+H)⁺ 404,2. UV λ=239, 311 nm.

35 Ejemplo 7. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 1 con 4-(piridin-2-il)anilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 404,2. UV $\lambda=241, 330$ nm.

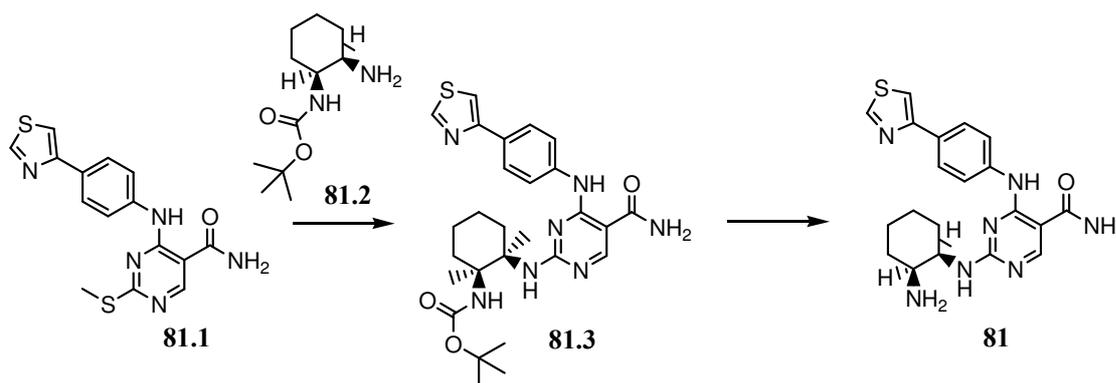
5 Ejemplo 8. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(pirimidin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 con ácido pirimidin-5-borónico para reemplazar ácido piridin-4-borónico **77.3**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,2. UV $\lambda=243, 308$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,13 (s, 1H), 9,08 (s, 2H), 8,55 (s, 1H), 7,82 (m, 4H), 4,44 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,94-1,60 (m, 8H) ppm.

10

Ejemplo 9. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



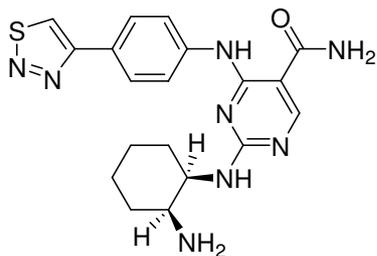
Etapa 1: El compuesto **81.1** se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 para **77.3** con 4-(tiazol-4-il)anilina para reemplazar la anilina **77.1**. MS experimental para $C_{15}H_{13}N_5OS_2$ como $(M+H)^+$ 344,1.

15 Etapa 2: El compuesto **81.1** (100 mg, 0,29 mmoles) se disolvió en 4 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 93 mg, 0,35 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 2 mL, 0,60 mmoles) y DIEA (156 μ L, 0,90 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 hora en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución

saturada acuosa de NaHCO_3 dos veces y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **81.3**. MS experimental para $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 510,2.

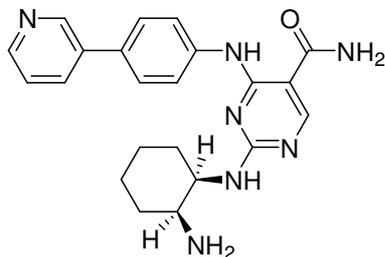
5 Etapa 3: El compuesto **81.3** se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{OS}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 410,2. UV $\lambda=239, 313$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,07 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,01 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,91 (s, 1H), 7,71 (d, $J=7,2$ Hz, 2H), 4,40 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,94-1,59 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 10. 4-(4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



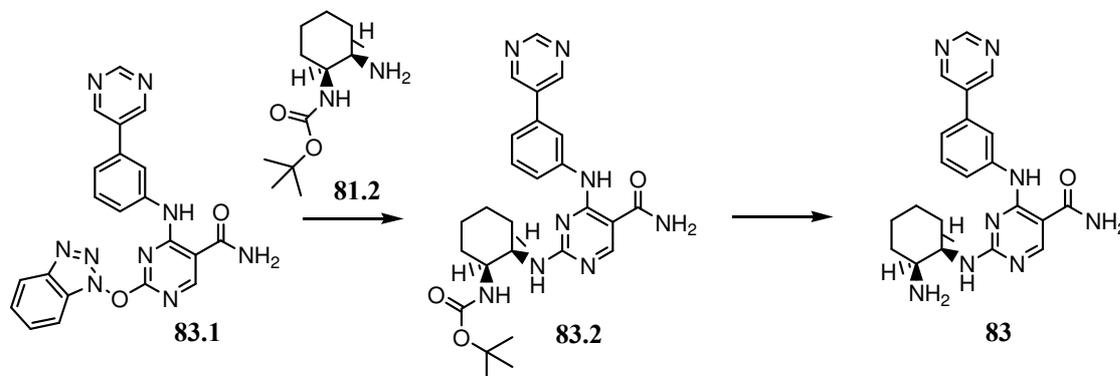
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9 con 4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{OS}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 411,2. UV $\lambda=233, 308$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,24 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,15 (d, $J=5,6$ Hz, 2H), 7,84 (m, 2H), 4,43 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 1,91-1,60 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 11. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 con ácido piridin-3-borónico para reemplazar ácido piridin-4-borónico **77.3**. MS experimental para $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 404,2. UV $\lambda=240, 311$ nm. RMN (CD_3OD) δ 9,05 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 8,70 (dd, $J=5,6, 1,2$ Hz, 1H), 8,61 (d, $J=6,8$ Hz, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,93-7,81 (m, 5H), 4,45 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 1,92-1,59 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 12. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirimidin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



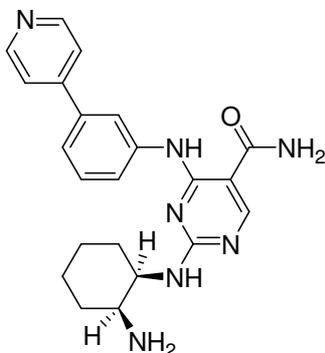
20

Etapa 1: El compuesto **83.1** se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 para **72.7** con 3-(pirimidin-5-il)anilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{21}H_{15}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 426,1.

5 Etapa 2: El compuesto **83.1** (150 mg, 0,35 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadieron una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 2,3 mL, 0,70 mmoles) y DIEA (185 μ L, 1,06 mmoles). La mezcla se agitó durante 40 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **83.2**. MS experimental para $C_{26}H_{32}N_8O_3$ como $(M+H)^+$ 505,2.

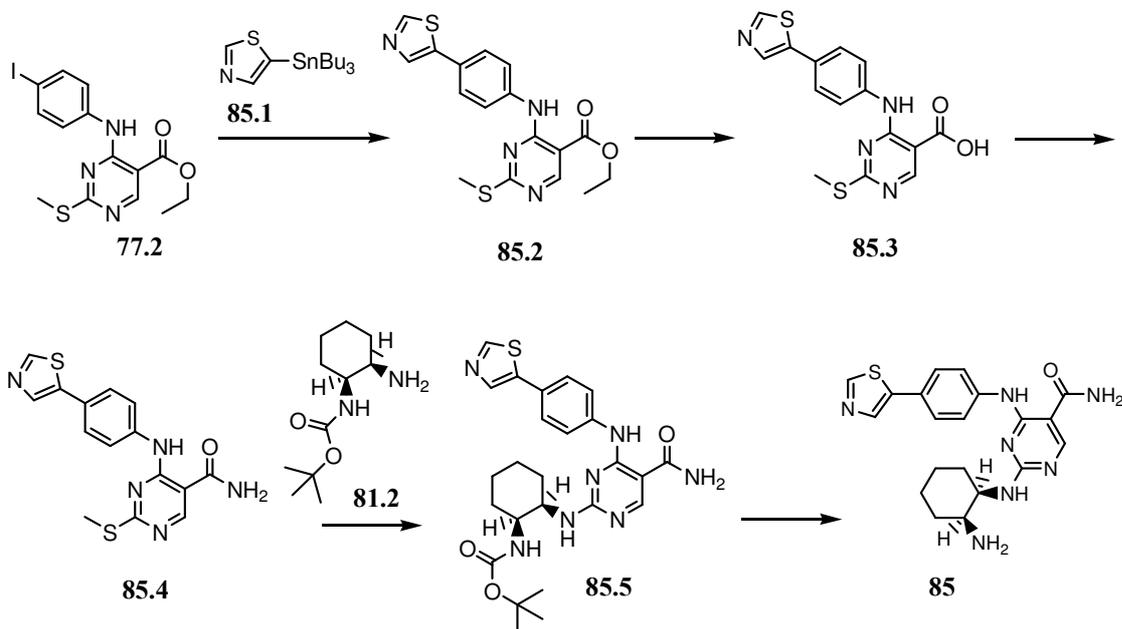
10 Etapa 3: El compuesto **83.2** se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,2. UV $\lambda=245$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,17 (s, 1H), 9,10 (s, 2H), 8,55 (s, 1H), 8,11 (m, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,58 (m, 2H), 4,37 (m, 1H), 3,61 (m, 1H), 1,91-1,50 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 13. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(piridin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 y el Ejemplo 9 con ácido piridin-3-borónico para reemplazar ácido piridin-4-borónico **77.3**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 404,2. UV $\lambda=240, 312$ nm.

Ejemplo 14. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tiazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Etapa 1: El yodobenceno **77.2** (400 mg, 0,96 mmoles) se disolvió en 10 mL de tolueno. A ello se añadieron 5-tributilstanniltiazol (430 mg, 1,15 mmoles) y Pd(PPh₃)₄ (115 mg, 0,1 mmoles). La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 minutos y se calentó bajo una atmósfera de argón durante 1 hora. Se concentró al vacío y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto **85.2** (160 mg, 45%). MS experimental para C₁₇H₁₆N₄O₂S₂ como (M+H)⁺ 373,1.

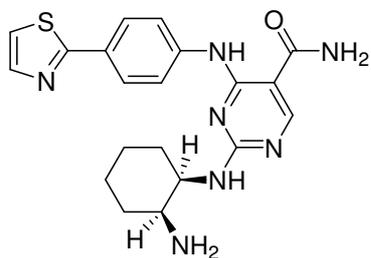
Etapa 2: El éster etílico **85.2** (160 mg, 0,43 mmoles) se disolvió en 30 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (55 mg, 1,3 mmoles) y 5 mL de agua. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se concentró al vacío para eliminar THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Se trituro un sólido amarillo claro de la solución. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **85.3** (120 mg, 81%). MS experimental para C₁₅H₁₂N₄O₂S₂ como (M+H)⁺ 345,1.

Etapa 3: El ácido carboxílico **85.3** (100 mg, 0,29 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreuro de EDC (86 mg, 0,45 mmoles) e hidrato de HOBT (61 mg, 0,45 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 3 mL, 1,5 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche. Luego se concentró al vacío para eliminar dioxano. A ello se añadió agua 100 mL. Se trituro un sólido amarillo claro. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **85.4** (75 mg, 76%). MS experimental para C₁₅H₁₃N₅O₂S₂ como (M+H)⁺ 344,1.

Etapa 4: El compuesto **85.4** (75 mg, 0,22 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 64 mg, 0,24 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 1,5 mL, 0,45 mmoles) y DIEA (115 µL, 0,66 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO₃ dos veces y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **85.5**. MS experimental para C₂₅H₃₁N₇O₃S como (M+H)⁺ 510,2.

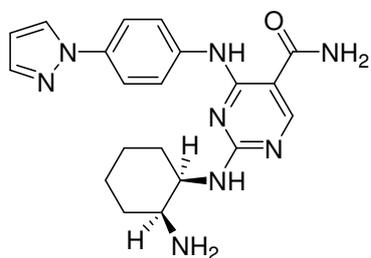
Etapa 5: El compuesto **85.5** se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para C₂₀H₂₃N₇OS como (M+H)⁺ 410,2. UV λ=240, 318 nm.

Ejemplo 15. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tiazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



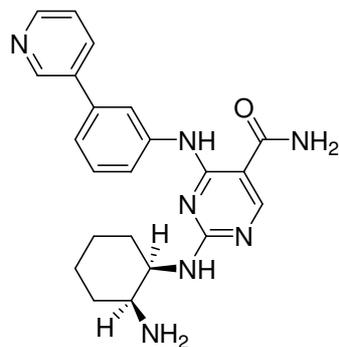
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 14 con 2-tributilstanniltiazol para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **85.1**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 410,2. UV $\lambda=243, 332$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,53 (s, 1H), 8,00 (d, $J=8,0$ Hz, 2H), 7,86 (d, $J=3,2$ Hz, 1H), 7,77 (d, $J=8,0$ Hz, 2H), 7,61 (d, $J=3,2$ Hz, 1H), 4,42 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,92-1,60 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 16. 4-(4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



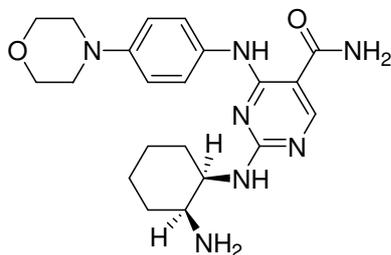
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 393,2. UV $\lambda=240, 302$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,41 (s, 1H), 8,12 (m, 1H), 7,70 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 7,63 (d, $J=7,2$ Hz, 2H), 7,62 (s, 1H), 6,43 (dd, $J=2,4, 2,0$ Hz, 1H), 4,27 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 1,83-1,45 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 17. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



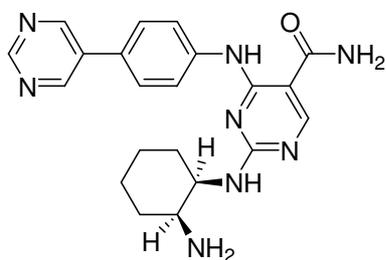
15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9 con 3-(piridin-3-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 404,2. UV $\lambda=248$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,05 (s, 1H), 8,73 (m, 1H), 8,59 (m, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,00 (s amplio, 1H), 7,92 (m, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,63-7,61 (m, 2H), 4,33 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 1,91-1,47 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 18. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



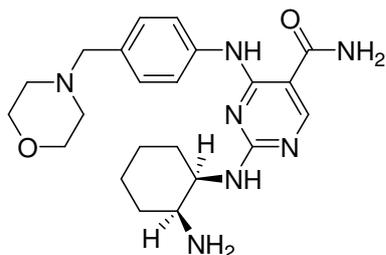
- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 y el Ejemplo 9 con 4-morfolino anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{21}H_{29}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 412,2. UV $\lambda=243, 294$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,45 (s, 1H), 7,49 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 7,04 (d, $J=9,2$ Hz, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,85 (m, 4H), 3,71 (m, 1H), 3,19 (m, 4H), 1,88-1,56 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 19. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(pirimidin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



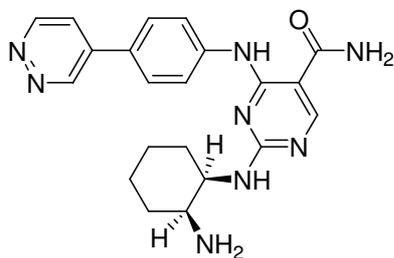
- 10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 y el Ejemplo 9 con ácido pirimidin-5-borónico para reemplazar ácido piridin-4-borónico **77.3**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,2. UV $\lambda=242, 307$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,13 (s, 1H), 9,08 (s, 2H), 8,55 (s, 1H), 7,82 (m, 4H), 4,44 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,95-1,58 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 20. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(morfolinometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



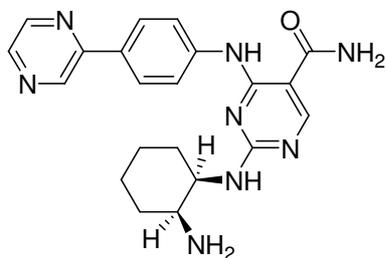
- 15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9 con 4-(morfolinometil)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{22}H_{31}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 426,3. UV $\lambda=244, 293$ nm.

Ejemplo 21. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridazin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



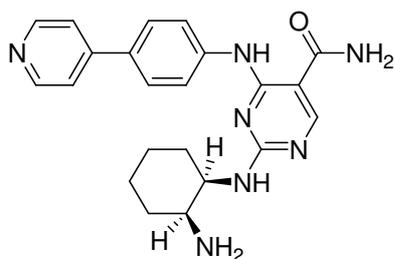
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 14 con 4-tributilstannilpiridazina para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **85.1**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,3. UV $\lambda=239, 327$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,59 (m, 1H), 9,21 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,08 (m, 1H), 7,96-7,85 (m, 5H), 4,47 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 1,93-1,59 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 22. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(pirazin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



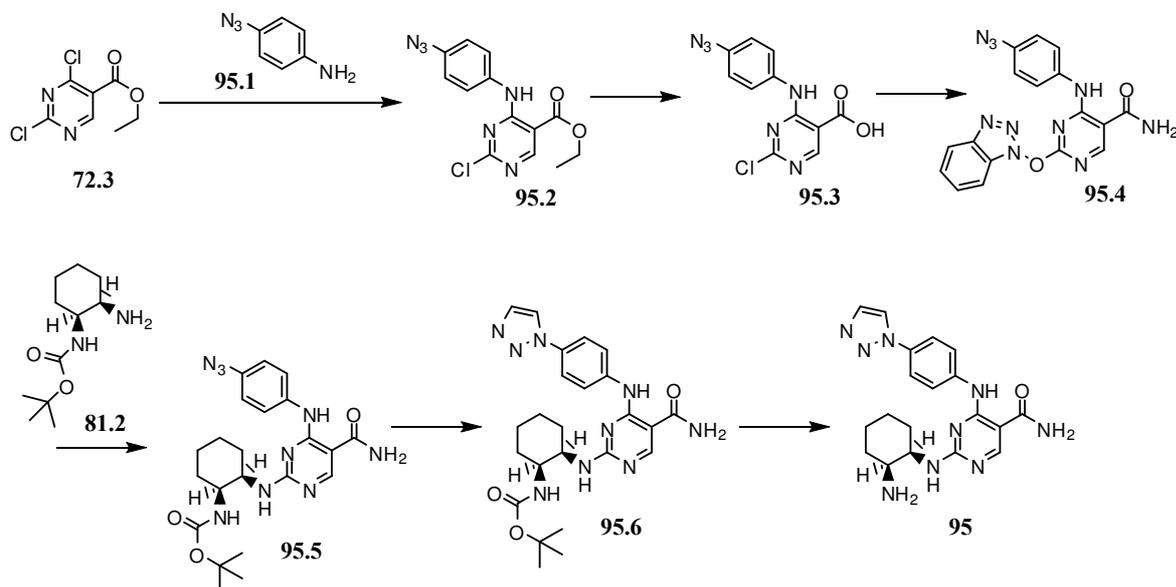
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 14 con 2-tributilstannilpirazina para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **85.1**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,3. UV $\lambda=235, 319$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,11 (s, 1H), 8,66 (s amplio, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,51 (s amplio, 1H), 8,14 (m, 2H), 7,85 (m, 2H), 4,44 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 1,92-1,58 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 23. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 5 y el Ejemplo 9. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 404,2. UV $\lambda=239, 334$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,76 (d, $J=6,8$ Hz, 2H), 8,60 (s, 1H), 8,29 (d, $J=6,4$ Hz, 2H), 8,05-7,96 (m, 4H), 4,49 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 1,93-1,60 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 24. 4-(4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



Etapa 1: El compuesto **72.3** (1,18 g, 5,3 mmoles) se disolvió en 40 mL de NMP y se agitó a temperatura ambiente. A ello se añadieron clorhidrato de 4-azidoanilina **95.1** (1,00 g, 5,9 mmoles) y luego DIEA (2,21 mL, 12,7 mmoles) gota a gota usando jeringa. La mezcla se agitó durante 1 hora y se diluyó con acetato de etilo. Se lavó con salmuera cuatro veces, se secó y se concentró al vacío para obtener el compuesto **95.2** (1,59 g, 94%). MS experimental para $C_{13}H_{11}ClN_6O_2$ como $(M+H)^+$ 319,2.

Etapa 2: El éster etílico **95.2** (1,59 g, 5,0 mmoles) se disolvió en 50 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (420 mg, 10 mmoles) y 5 mL de agua. La mezcla se agitó durante 4 horas y a ello se añadió con cuidado solución 3 N de HCl hasta que el pH alcanzó 3. La mezcla se concentró al vacío para eliminar THF. El residuo se extrajo en acetato de etilo y se lavó con salmuera dos veces. Se secó y se concentró al vacío para dar el compuesto **95.3** (1,58 g, 99%) en forma de un sólido. MS experimental para $C_{11}H_7ClN_6O_2$ como $(M+H)^+$ 291,2.

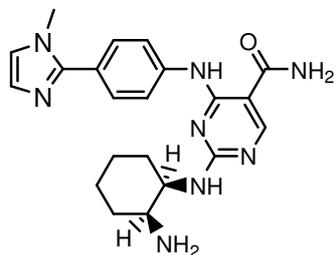
Etapa 3: El ácido carboxílico **95.3** (1,58 g, 5,0 mmoles) se disolvió en 40 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreto de EDC (1,44 g, 7,5 mmoles) e hidrato de HOBt (1,02 g, 7,5 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 50 minutos. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 50 mL, 25 mmoles). La mezcla se agitó durante 7 horas. Luego se concentró al vacío y un sólido se trituró. Se recogió, se lavó y se secó en horno de vacío para obtener el compuesto **95.4** (1,30 g, 67%). MS experimental para $C_{17}H_{12}N_{10}O_2$ como $(M+H)^+$ 389,3.

Etapa 4: El compuesto **95.4** (300 mg, 0,77 mmoles) se disolvió en 20 mL de NMP. A ello se añadieron una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 5,1 mL, 1,5 mmoles) y DIEA (400 μ L, 2,3 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró al vacío y se sometió a columna flash para obtener el compuesto **95.5** (420 mg, 90%). MS experimental para $C_{22}H_{29}N_9O_3$ como $(M+H)^+$ 467,3.

Etapa 5: El compuesto **95.5** (420 mg, 0,70 mmoles) se agitó en 10 mL de metanol. A ello se añadieron trimetilsililacetileno (200 mg, 1,4 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles) y DBU (313 μ L, 2,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución acuosa de cloruro de amonio saturado y salmuera dos veces. La fase orgánica se secó, se filtró y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **95.6**. MS experimental para $C_{24}H_{31}N_9O_3$ como $(M+H)^+$ 494,4.

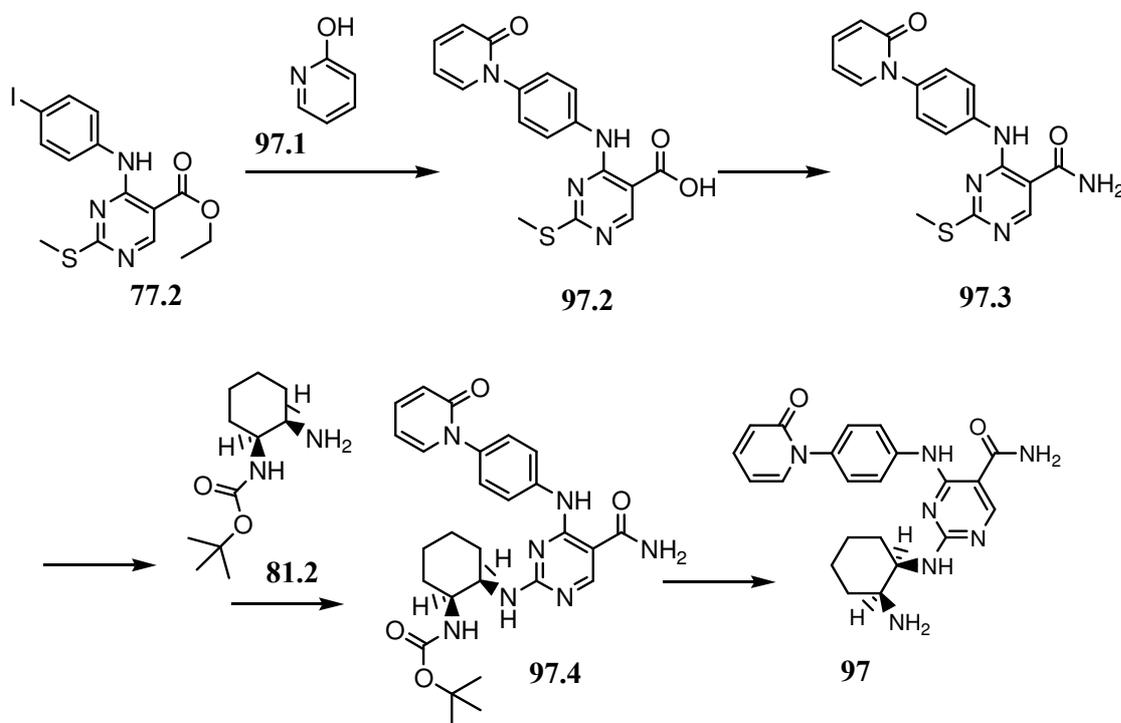
Etapa 6: El compuesto crudo **95.6** se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=242, 300$ nm.

Ejemplo 25. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1-metil-1H-imidazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 14 con 1-metil-2-tributilstannilimidazol para reemplazar 5-tributilstanniliazol **85.1**. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,4. UV $\lambda=241, 300$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,97 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,90 (m, 2H), 7,64 (m, 3H), 4,46 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,73 (m, 1H), 1,92-1,58 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 26. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(2-oxopiridin-1(2H)-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



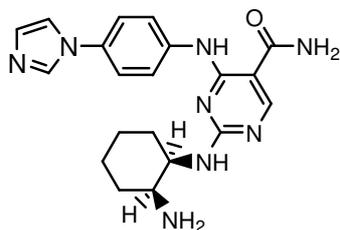
10 Etapa 1: El yodobenceno **77.2** (440 mg, 1,06 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMSO. A ello se añadieron 2-hidroxipiridina **97.1** (202 mg, 2,12 mmoles), K_2CO_3 (293 mg, 2,12 mmoles), CuI (61 mg, 0,32 mmoles) y 8-hidroxiquinolina (46 mg, 0,32 mmoles). La mezcla se agitó en baño de $120^\circ C$ durante 5 horas. A la mezcla se añadieron hidróxido de litio hidratado (126 mg, 3 mmoles) y 10 mL de agua. La mezcla se agitó durante la noche. A ello se añadió con cuidado HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. La mezcla se filtró a través de celite y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto **97.2** (75 mg, 20%). MS experimental para $C_{17}H_{14}N_4O_3S$ como $(M+H)^+$ 354,3.

15 Etapa 2: El ácido carboxílico **97.2** (75 mg, 0,21 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron hidrócloruro de EDC (61 mg, 0,32 mmoles) e hidrato de HOBt (44 mg, 0,32 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 2 mL, 1 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas. Luego se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto **97.3** (40 mg, 53%). MS experimental para $C_{17}H_{15}N_5O_2S$ como $(M+H)^+$ 355,3.

Etapa 3: El compuesto **97.3** (40 mg, 0,11 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 37 mg, 0,14 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 0,73 mL, 0,22 mmoles) y DIEA (115 μ L, 0,66 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 hora en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO₃ dos veces y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **97.3**. MS experimental para C₂₇H₃₃N₇O₄ como (M+H)⁺ 520,4.

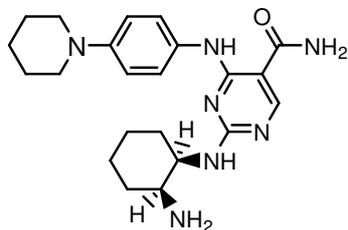
Etapa 4: El compuesto **97.4** se agitó en una mezcla 4:1 de TFA y diclorometano a 50°C durante 1 hora. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para C₂₂H₂₅N₇O₂ como (M+H)⁺ 420,4. UV λ =241, 296 nm.

10 Ejemplo 27. 4-(4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



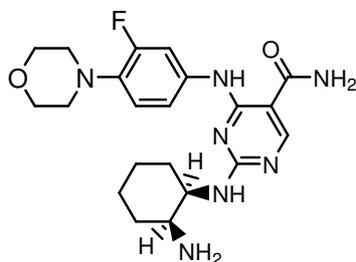
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 3 y el Ejemplo 9 con 4-(1H-imidazol-1-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₀H₂₄N₈O como (M+H)⁺ 393,4. UV λ =246, 292 nm. RMN (CD₃OD): δ 9,41 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,05-7,95 (m, 3H), 7,79-7,76 (m, 3H), 4,46 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 1,93-1,59 (m, 8H) ppm.

15 Ejemplo de Referencia 28. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piperidin-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9 con 4-(piperidin-1-il)anilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para C₂₂H₃₁N₇O como (M+H)⁺ 410,4. UV λ =246, 287 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,55 (s, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,59 (m, 2H), 4,41 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,58 (m, 4H), 2,02 (m, 4H), 1,90-1,80 (m, 8H), 1,60 (m, 2H) ppm.

20 Ejemplo de Referencia 29. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida

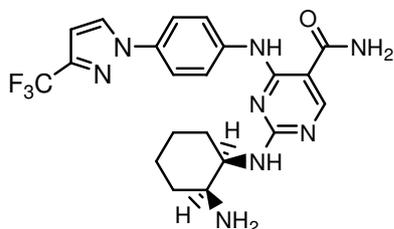


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo de Referencia 1 con 3-fluoro-4-morfolinoanilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para

25

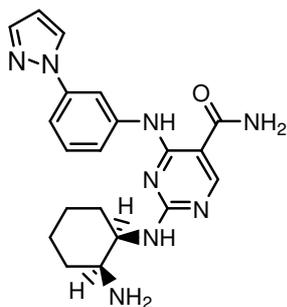
$C_{21}H_{28}FN_7O_2$ como $(M+H)^+$ 430,4. UV $\lambda=239, 309$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,49 (s, 1H), 7,63 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,08 (dd, $J=9,6, 8,8$ Hz, 1H), 4,34 (m, 1H), 3,85 (m, 4H), 3,76 (m, 1H), 3,08 (m, 4 H), 1,92-1,58 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 30. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 y el Ejemplo 9 con 4-(3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{21}H_{23}F_3N_8O$ como $(M+H)^+$ 461,4. UV $\lambda=241, 236$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,54 (s, 1H), 8,38 (s amplio, 1H), 7,85-7,80 (m, 4H), 6,84 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 1,91-1,59 (m, 8H) ppm.

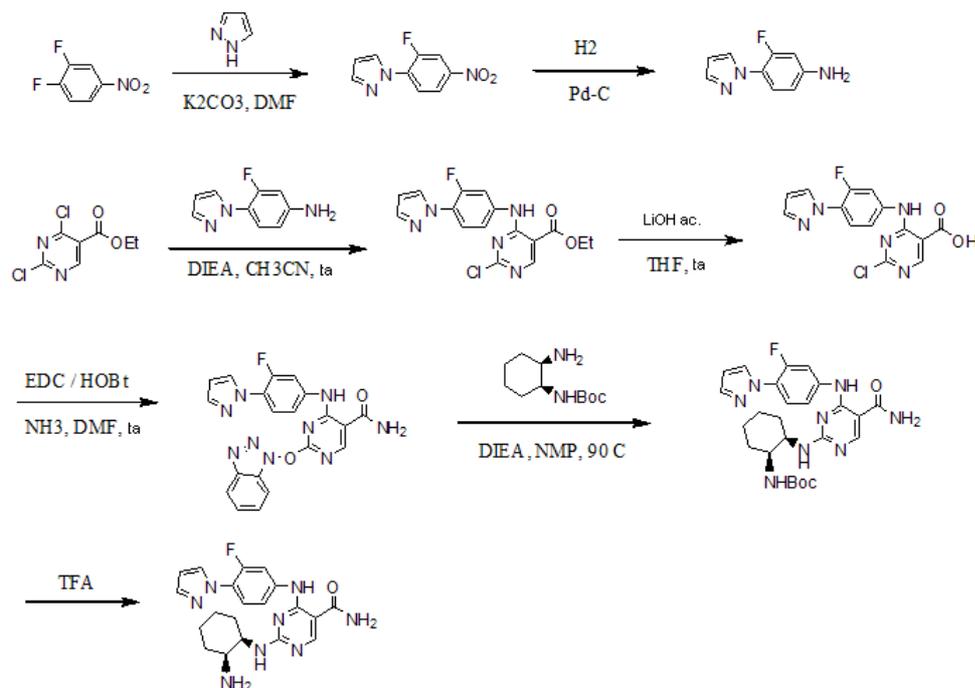
Ejemplo 31. 4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 y el Ejemplo 9 con 3-(1H-pirazol-1-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 393,4. UV $\lambda=247$ nm.

Ejemplo 32. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Una mezcla de 3,4-difluoronitrobenzono (1,00 mL, 9,03 mmoles), pirazol (0,615 g, 9,04 mmoles) y K₂CO₃ (2,50 g, 18,1 mmoles) en DMF (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El agua (30 mL) se añadió para inducir una precipitación. El precipitado se recogió, se secó al vacío para dar 1-(2-fluoro-4-nitrofenil)-1H-pirazol en forma de un sólido (1,80 g). MS 208,3 (M+H)

Una suspensión de 1-(2-fluoro-4-nitrofenil)-1H-pirazol (1,80 g, 8,70 mmoles) y Pd-C (10%, 0,200 g) en MeOH (20 mL) (con 10 gotas de HCl 6 N) se hidrogenó bajo balón de H₂ durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se secó al vacío para dar 3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)benzenamina en forma de un sólido (1,55 g). MS 178,3 (M+H)

10 A una solución de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (280 mg, 1,27 mmoles) y 3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)benzenamina (230 mg, 1,30 mmoles) en CH₃CN (8 mL) a temperatura ambiente, se añadió DIEA (0,442 mL, 2,54 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. El agua (15 mL) se añadió para inducir una precipitación. El precipitado se recogió, se secó al vacío para dar 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo en forma de un sólido (275 mg). MS 362,3 y 364,3 (M+H, patrón de Cl)

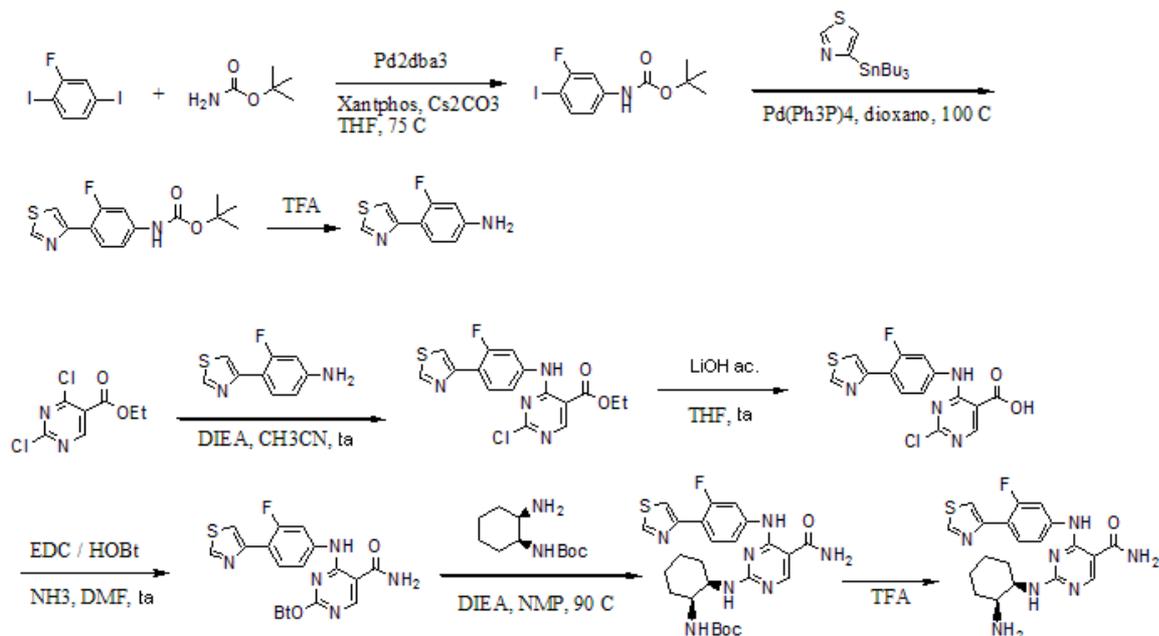
15 A una solución de 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (275 mg, 0,761 mmoles) en THF (4 mL), LiOH 1 N acuoso (1,25 mL, 1,25 mmoles) se añadió. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de acidificar la mezcla con HCl 1 N, los sólidos blancos se precipitaron, que se recolectaron y se secaron al vacío para dar ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (230 mg). MS 334,3 y 336,3 (M+H, patrón de Cl)

20 A una solución de ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (230 mg, 0,690 mmoles) y HOBt (158 mg, 1,03 mmoles) en DMF (4 mL), se añadió EDC (200 mg, 1,04 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. El amoníaco (0,5 M en dioxano, 6,00 mL, 3,00 mmoles) se añadió. Se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El agua y EtOAc se añadieron. La fase orgánica se separó, se lavó con HCl 1 N, luego con 5% de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío para dar 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (184 mg). MS 432,4 (M+H)

30 Una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (0,30 M en NMP, 2,00 mL, 0,600 mmoles) en NMP (2 mL) se añadió a 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (184 mg, 0,427 mmoles). DIEA (0,150 mL, 0,863 mmoles) también se añadió. La mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadió agua para inducir una precipitación. El precipitado se recogió, luego se disolvió en CH₂Cl₂ (5 mL) y TFA (4 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se

concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar el compuesto del título (103 mg). MS 411,5 (M+H). UV $\lambda=238,8, 304,8$ nm.

Ejemplo 33. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Una mezcla de 2,5-diyodofluorobenceno (1,36 g, 3,90 mmoles), terc-butilcarbomato (0,454 g, 3,88 mmoles), xantphos (0,233 g, 0,40 mmoles) y Cs_2CO_3 (polvo seco, 2,48 g, 7,61 mmoles) en THF (12 mL) se desgasificó con Ar antes de cargar con $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,071 g, 0,078 mmoles). Se agitó a 75°C durante la noche. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío. El residuo se cargó a una columna flash, se eluyó con 0-10% de EtOAc en hexano para dar 3-fluoro-4-yodofenilcarbomato de terc-butilo (716 mg).

10 Una solución de 3-fluoro-4-yodofenilcarbomato de terc-butilo (500 mg, 1,48 mmoles) y 4-(tributilstannil)tiazol (0,578 mL, 1,80 mmoles) en dioxano (6 mL) se desgasificó con Ar antes de cargar con $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (170 mg, 0,147 mmoles). Se agitó a 100°C durante 34 h, luego se concentró al vacío. El residuo se cargó a una columna flash, se eluyó con 0-25% de EtOAc en hexano para dar 3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilcarbomato de ter-butilo (270 mg). MS 295.3 (M+H)

15 Una solución de 3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilcarbomato de terc-butilo (270 mg, 0,92 mmoles) en CH_2Cl_2 (2 mL) y TFA (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 60 min. Luego se concentró al vacío. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (20 mL), que se lavó con 5% de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 3-fluoro-4-(tiazol-4-il)bencenammina (145 mg) en forma de base libre. MS 195.2 (M+H)

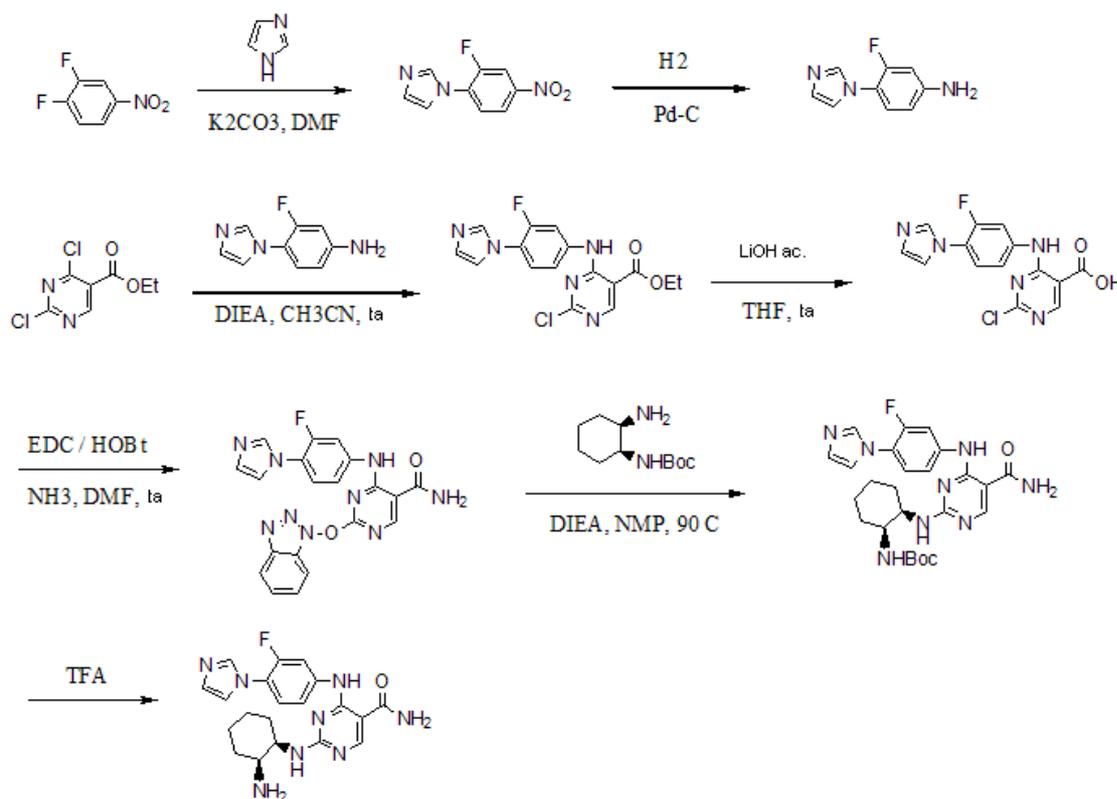
20 A una solución de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (165 mg, 0,746 mmoles) y 3-fluoro-4-(tiazol-4-il)bencenammina (145 mg, 0,747 mmoles) en CH_3CN (5 mL) a temperatura ambiente, se añadió DIEA (0,260 mL, 1,49 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, durante lo cual los sólidos se precipitaron. El precipitado se recogió, se secó al vacío para dar 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo en forma de un sólido (186 mg). MS 379,3 y 381.3 (M+H, patrón de Cl)

25 A una suspensión de 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (186 mg, 0,491 mmoles) en THF (4 mL), se añadió LiOH 1 N acuoso (1,00 mL, 1,00 mmoles). La suspensión se volvió clara con agitación. La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante la noche. Después de acidificar la mezcla con HCl 1 N, los sólidos blancos se precipitaron, que se recolectaron y se secaron al vacío para dar ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (158 mg). MS 351,2 y 353,3 (M+H, patrón de Cl)

5 A una solución de ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (158 mg, 0,450 mmoles) y HOBt (103 mg, 0,673 mmoles) en DMF (4 mL), se añadió EDC (130 mg, 0,678 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió amoníaco (0,5 M en dioxano, 4,50 mL, 2,25 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con 5% de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O y CH₃CN (50:50). La materia insoluble se recogió y se secó al vacío para dar 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida en forma de un sólido (36 mg). MS 449,4 (M+H)

10 Una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (0,30 M en NMP, 1,00 mL, 0,300 mmoles) en NMP (1 mL) se añadió a 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (12 mg, 0,027 mmoles). También se añadió DIEA (0,050 mL, 0,29 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 1h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadió TFA (1 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 60 min. La mezcla se purificó por HPLC para dar el compuesto del título (5 mg). MS 428,4 (M+H). UV λ=229,8, 313,8 nm.

Ejemplo 34. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15 Una mezcla de 3,4-difluoronitrobenzono (1,00 mL, 9,03 mmoles), imidazol (0,615 g, 9,04 mmoles) y K₂CO₃ (2,50 g, 18,1 mmoles) en DMF (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua (20 mL) para inducir una precipitación. El precipitado se recogió, se secó al vacío para dar 1-(2-fluoro-4-nitrofenil)-1H-imidazol en forma de un sólido (1,81 g). MS 208,2 (M+H)

20 Una mezcla de 1-(2-fluoro-4-nitrofenil)-1H-imidazol (1,81 g, 8,74 mmoles) y Pd-C (10%, 0,200 g) en MeOH (20 mL) (que contenía 10 gotas de HCl 6 N) se hidrogenó bajo balón de H₂ durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se secó al vacío para dar 3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)benzenamina en forma de un sólido (1,37 g). MS 178,3 (M+H)

25 A una solución de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (280 mg, 1,27 mmoles) y 3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)benzenamina (230 mg, 1,30 mmoles) en CH₃CN (8 mL) a temperatura ambiente, se añadió DIEA (0,442 mL, 2,54 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se

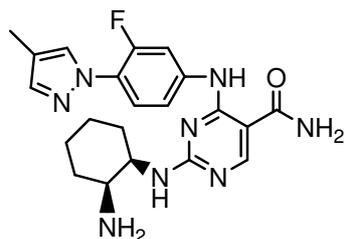
separó, se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo en forma de un sólido (383 mg). MS 362,4 y 364,3 (M+H, patrón de Cl)

5 A una solución de 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (383 mg, 1,06 mmoles) en THF (5 mL), se añadió LiOH 1 N acuoso (2,00 mL, 2,00 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El THF se eliminó al vacío. Después de acidificar con HCl 1 N, la mezcla se purificó por HPLC para dar ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (68 mg). MS 334,1 y 336,1 (M+H, patrón de Cl)

10 A una solución de ácido 2-cloro-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxílico (68 mg, 0,20 mmoles) y HOBt (63 mg, 0,41 mmoles) en DMF (2 mL), se añadió EDC (60 mg, 0,31 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió amoníaco (0,5 M en dioxano, 0,800 mL, 0,40 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió más EDC (100 mg, 0,52 mmoles). Se agitó durante otras 24 h. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con 5% de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (57 mg). MS 432,2 (M+H)

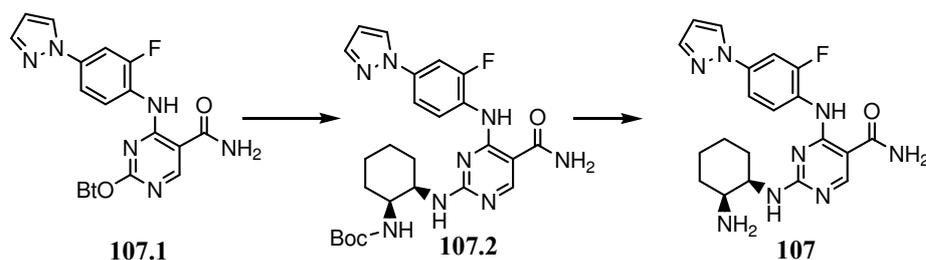
15 Una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (0,30 M en NMP, 1,00 mL, 0,300 mmoles) en NMP (1 mL) se añadió a 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(3-fluoro-4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (57 mg, 0,13 mmoles). También se añadió DIEA (0,100 mL, 0,57 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 1 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con 5% de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (1 mL) y TFA (1 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 60 min. Se concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar el compuesto del título (23 mg). MS 411,3 (M+H). UV $\lambda=247,8, 299,8$ nm.

20 Ejemplo 35. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(4-metil-1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó análogamente de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 34. MS 425,3 (M+H). UV $\lambda=247,8, 311,8$ nm.

25 Ejemplo 36. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

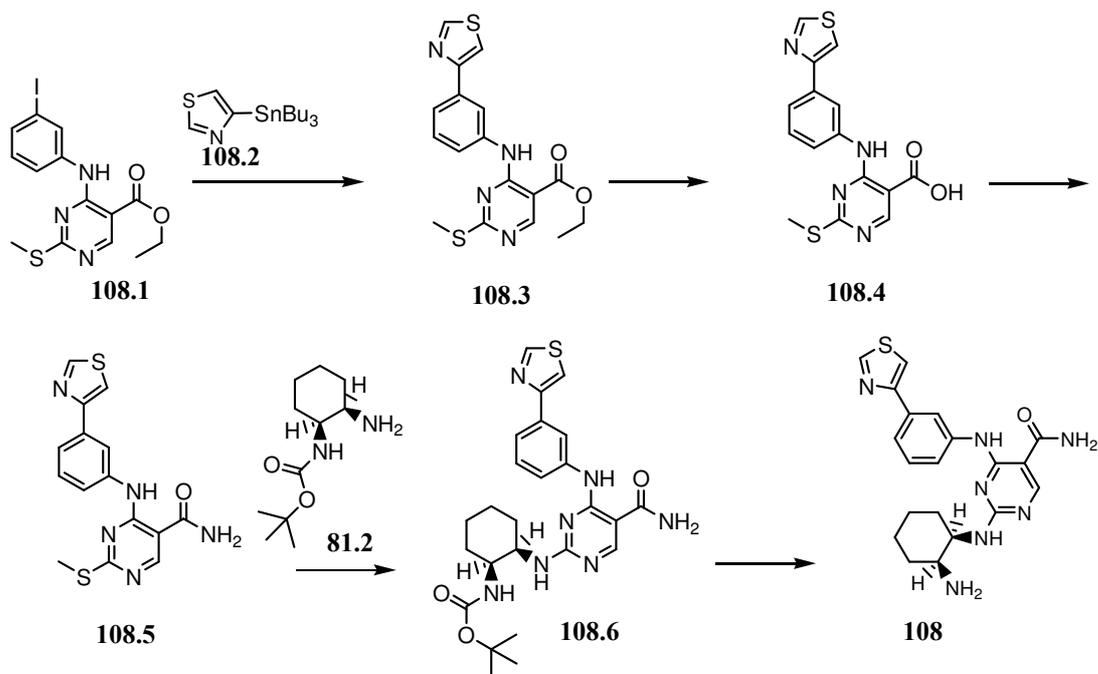


El compuesto **107.1** se sintetizó tal como se muestra en el Ejemplo de Referencia 1 para **72.7** usando 2-fluoro-4-(1H-pirazol-1-il)anilina para reemplazar **72.4**.

30 A **107.1** (0,054 g, 0,125 mmoles) se añadió una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 0,6 mL, 0,18 mmoles) y DIEA (33 μL , 0,18 mmoles). Después de agitar durante 2 h a 65°C de baño, la mezcla se diluyó con agua, los precipitados resultantes se recogieron por filtración para dar **107.2**. A una mezcla de **107.2** en DCM (0,5 mL) se añadió TFA (0,5 mL), tras lo cual se agitó a temperatura ambiente durante 10 min, la solución se concentró y

el residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título **107**. MS experimental para $C_{20}H_{23}FN_8O$ como $(M+H)^+$ 411,1. UV: $\lambda = 201,6, 240,4, 289,0$.

Ejemplo 37. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



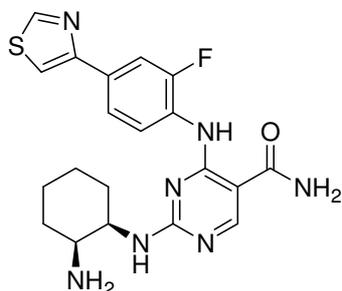
5 Etapa 1: A una mezcla de yodobenceno **108.1** (200 mg, 0,46 mmoles) en tolueno (2 mL) se añadió 5-tributilstanniltiazol **108.2** (173 mg, 0,46 mmoles) y $Pd(PPh_3)_4$ (53 mg, 0,046 mmoles). La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 minutos y se calentó bajo una atmósfera de argón durante 2 horas. Se concentró al vacío y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto **108.3** (100 mg).

10 Etapa 2: A una mezcla de éster etílico **108.3** (84 mg, 0,22 mmoles) en THF (0,8 mL) se añadió una solución de hidróxido de litio hidratado (8 mg, 0,35 mmoles) en agua (0,5 mL). Después de agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío para eliminar THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración para dar el compuesto **108.4** (74 mg).

15 Etapa 3: A una mezcla de ácido carboxílico **108.4** (74 mg) en DMF (1 mL) se añadieron hidrocloreuro de EDC (60 mg) e hidrato de HOBt (48 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 1 mL). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Luego se concentró al vacío para eliminar dioxano. A ello se añadió agua, los precipitados se recogieron por filtración para dar el compuesto **108.5**.

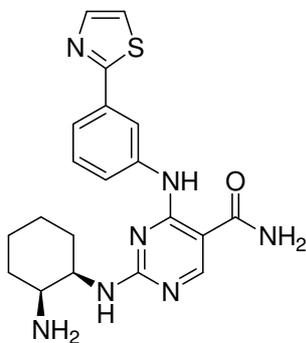
20 Etapa 4: El compuesto **108.5** (55 mg, 0,16 mmoles) se disolvió en 0,3 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 47 mg, 0,18 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **57.2** (0,3 M, 0,8 mL, 0,24 mmoles) y DIEA (57 μ L, 0,32 mmoles). La mezcla se agitó durante 60 minutos a 80°C de baño. Esta mezcla se diluyó con agua, los precipitados resultantes se recogió por filtración para dar **108.6**, que se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 410,2. UV: $\lambda = 202,8, 245,2$.

25 Ejemplo 38. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-fluoro-4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se sintetizó tal como se muestra en el Ejemplo 14. MS experimental para $C_{20}H_{22}FN_7OS$ como $(M+H)^+$ 428,5. UV: $\lambda = 240,4, 312,8$

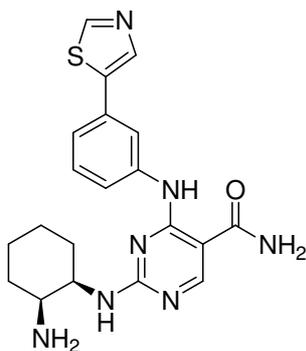
Ejemplo 39. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(tiazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

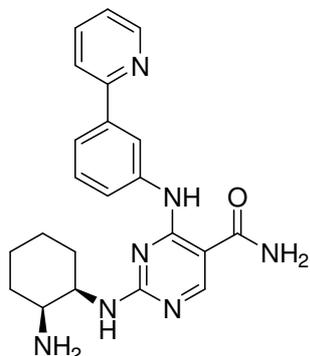
El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 2-tributilstanniltiazol para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 410,2 UV: $\lambda = 206,3, 242,8, 291,4$

Ejemplo 40. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(tiazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



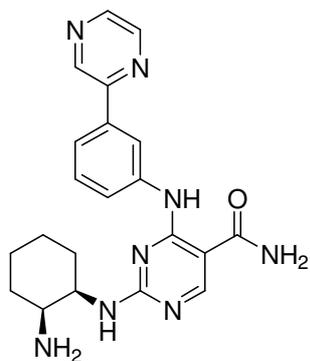
10 El compuesto del título **111** se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 4-tributilstanniltiazol para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 410,5 UV: $\lambda = 201,6, 244,0, 277,1$

Ejemplo 41. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(piridin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 2-tributilstannilpiridina para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 404,2; UV: $\lambda = 242,8, 292,6$

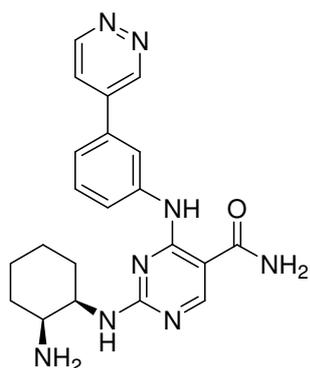
Ejemplo 42. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirazin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

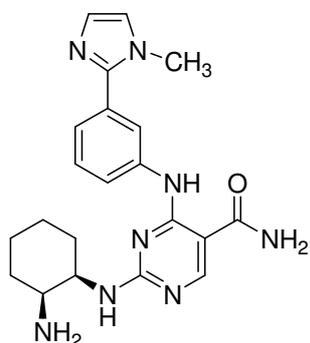
El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 2-tributilstannilpirazina para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,3 UV: $\lambda = 244,0, 289,0$

Ejemplo 43. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(piridazin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



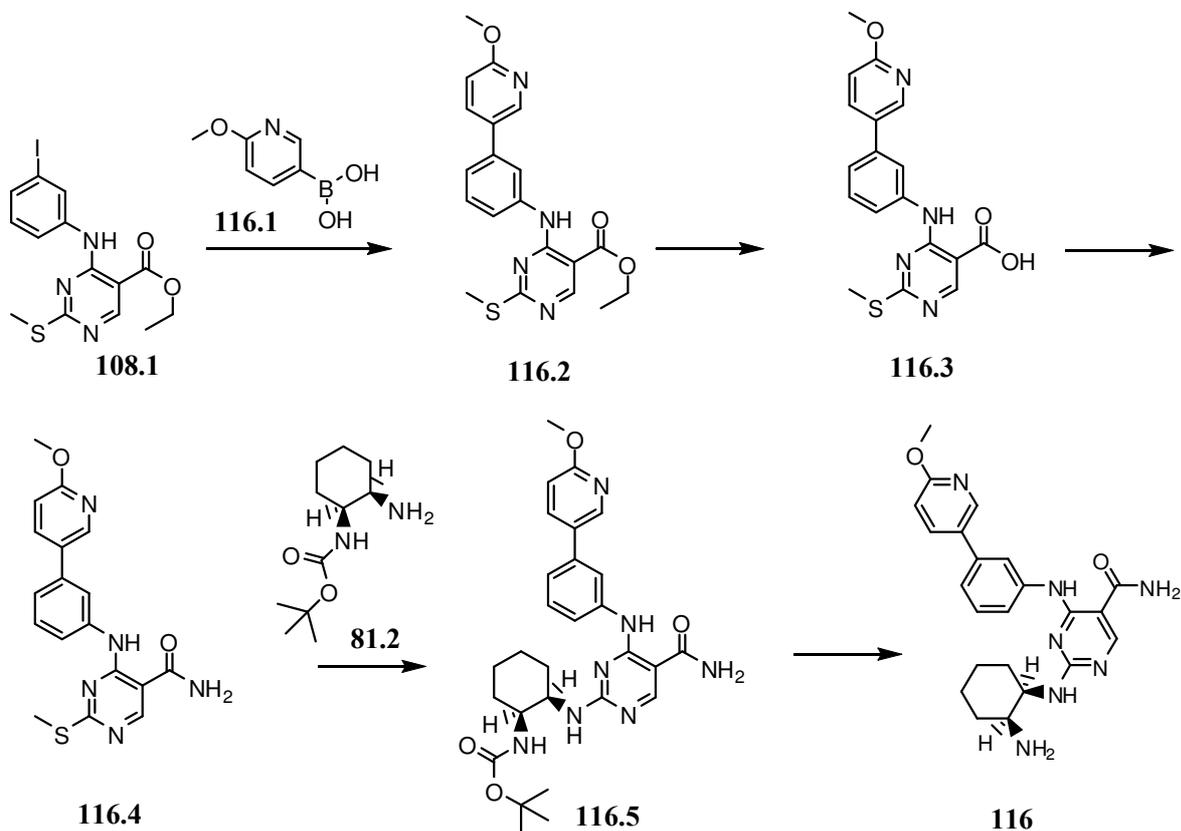
10 El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 4-tributilstannilpiridazina para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 405,2 UV: $\lambda = 246,3$

Ejemplo 44. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-imidazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 37 usando 1-metil-2-tributilstannil-1H-imidazol para reemplazar 5-tributilstanniltiazol **108.2**. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,2. UV: $\lambda = 242,8$

Ejemplo 45. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(6-metoxipiridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

Etapa 1: A una mezcla de yodobenceno **108.1** (300 mg, 0,72 mmoles) en p-dioxano (5 mL) se añadieron ácido 6-metoxipiridin-3-ilborónico **116.1** (121 mg, 0,80 mmoles) y Na_2CO_3 1 M (21 mL) seguido por $PdCl_2(PPh_3)_2$ (51 mg, 0,07 mmoles). La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 minutos y se calentó a $85^\circ C$ bajo una atmósfera de argón durante 2 horas. Se diluyó con DCM, la capa orgánica se lavó con $NaHCO_3$ saturado, salmuera, se secó y se concentró para dar el residuo crudo, que se purificó por cromatografía en columna para dar **116.2** (160 mg).

10

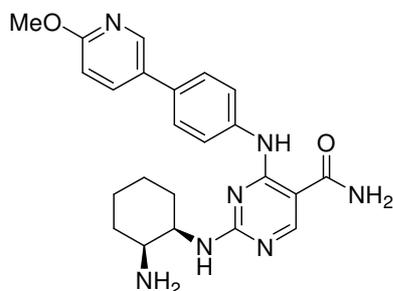
Etapa 2: A una mezcla de éster etílico **116.2** (160 mg) en THF (1,6 mL) se añadió una solución de hidróxido de litio hidratado (20 mg) en agua (1 mL). Después de agitar durante 24 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío

para eliminar el THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración para dar el compuesto **116.3**.

5 Etapa 3: A una mezcla de ácido carboxílico **116.3** en DMF (1,8 mL) se añadieron hidrocloreto de EDC (193 mg) e hidrato de HOBT (153 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 2 mL). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Luego se concentró al vacío para eliminar el dioxano. A ello se añadió agua, los precipitados se recogieron por filtración para dar el compuesto **116.4**.

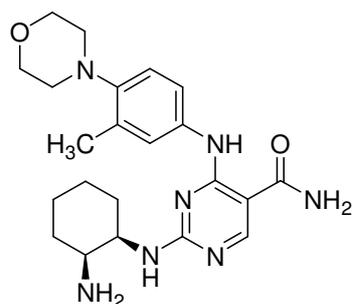
10 Etapa 4: El compuesto **116.4** (80 mg, 0,22 mmoles) se disolvió en 0,5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 64 mg, 0,24 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 1,2 mL, 0,3 mmoles) y DIEA (78 μ L, 0,44 mmoles). La mezcla se agitó durante 60 minutos a 85°C de baño. Esta mezcla se diluyó con agua, los precipitados resultantes se recogieron por filtración para dar **116.5**, que se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{23}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 434,3 UV: $\lambda = 247,5$

15 Ejemplo 46. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(6-metoxipiridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



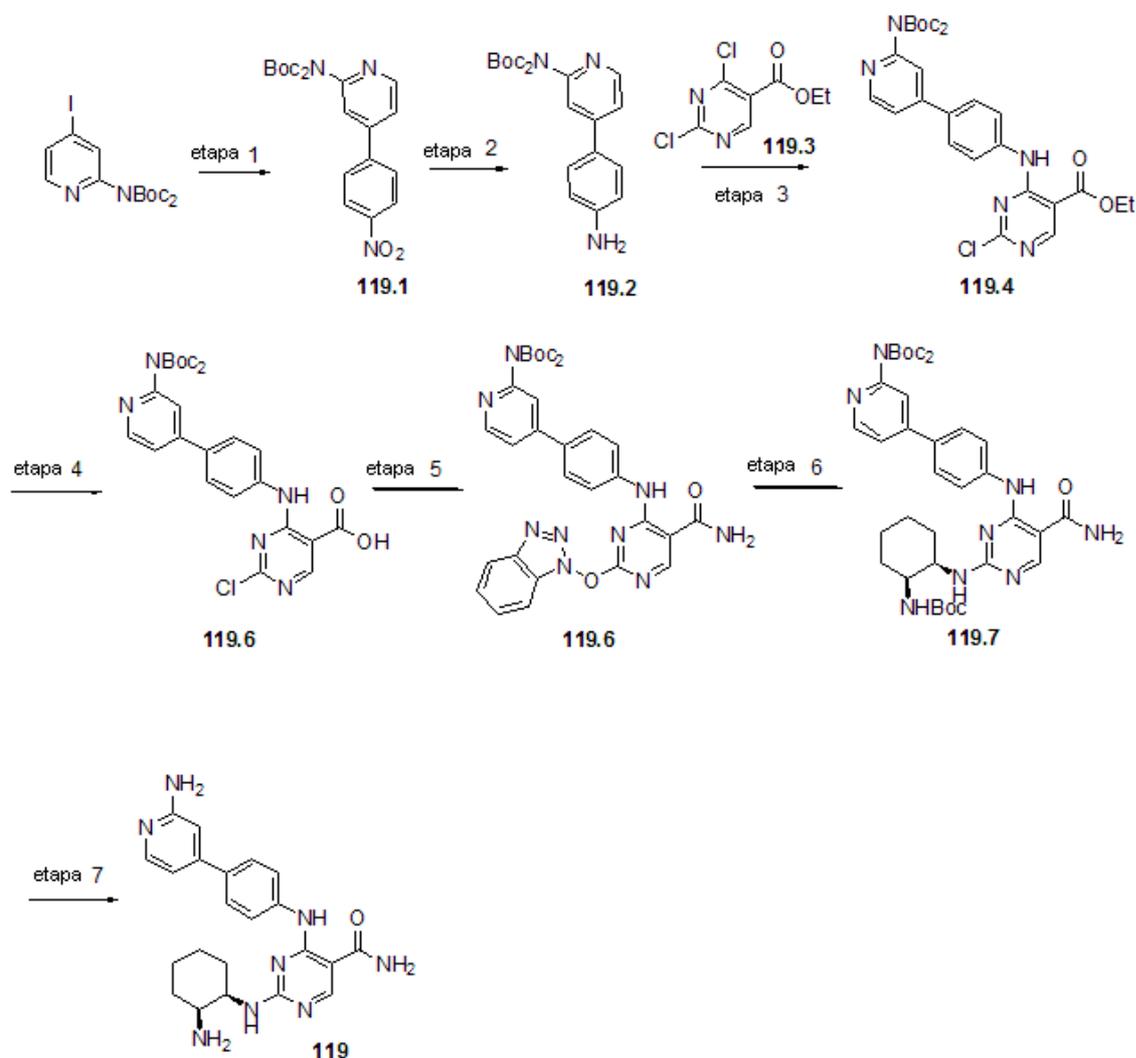
El compuesto del título se sintetizó tal como se demuestra en el Ejemplo 45 usando 4-(4-yodofenilamino)-2-(metiltio)pirimidin-5-carboxilato de etilo para reemplazar **108.1**. MS experimental para $C_{23}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 434,3. UV: $\lambda = 240,4, 306,8$

20 Ejemplo de Referencia 47. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 y el Ejemplo 9 con 3-metil-4-morfolinoanilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{22}H_{31}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 426,3. UV: $\lambda = 240,4, 296,1$

25 Ejemplo 48 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(2-aminopiridin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Etapa 1: Una mezcla de ácido 4-Nitro-fenil-Borónico (159 mg, 0,95 mmoles), N,N-Bis(terc-butiloxicarbonil)amino-4-yodopiridina (US6831175) (200 mg, 0,47 mmoles), carbonato de potasio (329 mg, 2,38 mmoles), Tetraquis(trifenilfosfina)-paladio(0) (220 mg, 0,19 mmoles), DME (5 mL), agua (0,6 mL) se calentó en microondas (Emry's Optimizer) a 120°C durante 15 min. La reacción se repitió cuatro veces más. Las reacciones combinadas se vertieron en acetato de etilo y se lavaron con agua (2x), salmuera (1x) y se concentraron. El concentrado se purificó luego por cromatografía flash en columna de gel de sílice (3:7 acetato de etilo/Hexanos) para proporcionar N,N-Bis(terc-butiloxicarbonil)amino-(4-nitrofenil)piridina **119.1**. MS experimental para $C_{21}H_{25}N_3O_6$ como $(M+H)^+$ 416,0.

10 Etapa 2: El compuesto **119.1** (955 mg, 2,3 mmoles) se disolvió en etanol (40 mL) con algunas gotas de ácido acético y se hidrogenó a 1 atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd/C al 10% (húmedo) durante 5 h. La reacción se filtró, se concentró para dar **119.2** (782 mg, 88%) en forma de un sólido marrón oscuro. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_3O_4$ como $(M+H)^+$ 386,0.

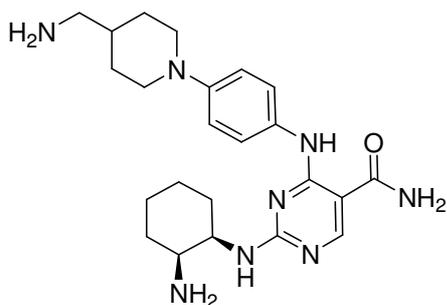
15 Etapa 3: A una solución de Dicloropirimidina **119.3** (180 mg, 0,816 mmoles) en acetonitrilo (3 mL) se añadió una suspensión de **119.2** (314 mg, 0,816 mmoles), diisopropilamina (0,16 mL, 0,897 mmoles) en acetonitrilo (8 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (2x). Las capas combinadas de acetato de etilo se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener **119.4**. MS experimental para $C_{28}H_{32}ClN_5O_6$ como $(M+H)^+$ 570,0.

5 Etapa 4: El éster etílico crudo **119.4** (460 mg, 0,81 mmoles) se diluyó con 1,4-dioxano (5 mL) seguido por hidróxido de litio acuoso (1,0 M, 0,8 mL, 0,8 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente hasta convertir todo el material de partida en el ácido carboxílico. La reacción luego se diluyó con agua (30 mL) y se acidificó con HCl 1 N (1,0 mL). La suspensión resultante luego se filtró, se lavó con agua y se secó dando 385 mg del ácido carboxílico **119.5** (88%). MS experimental para $C_{26}H_{28}ClN_5O_6$ como $(M+H)^+$ 542,0.

Etapa 5: Al ácido carboxílico **119.5** (385 mg, 0,71 mmoles), EDC (204 mg, 1,06 mmoles), HOBt (163 mg, 1,06 mmoles) en N,N-dimetilformamida (3,6 mL) se añadió amoníaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 3,6 mL, 1,8 mmoles) y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **119.6** (394 mg, 87%). MS experimental para $C_{32}H_{33}N_9O_6$ as $(M+H-Boc)^+$ 540,0.

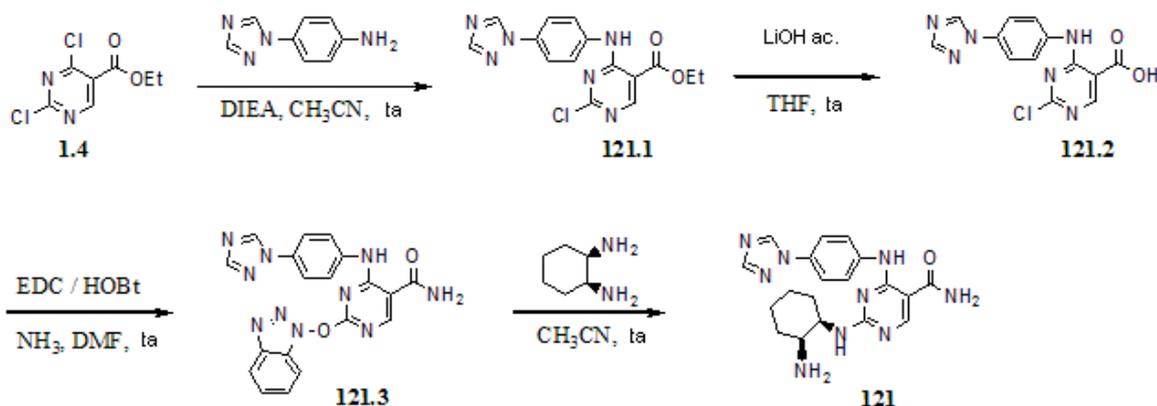
10 Etapa 6 y Etapa 7: Una mezcla de Éter de benzotriazolilo **119.6** (90 mg, 0,140 mmoles), (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (36 mg, 0,170 mmoles), DIPEA (0,07 mL, 0,420 mmoles) en iso-propanol (2 mL) se calentó en microondas (Emry's Optimizer) a 130°C durante 20 min. La mezcla de reacción se concentró y luego se trató con HCl 4,0 M en dioxano (6,0 mL). Después de 1 hora a temperatura ambiente, se concentró la mezcla de reacción y se diluyó con agua y acetonitrilo y se purificó directamente por HPLC preparativa para dar como resultado el producto deseado **119** (43,6 mg, 75%) en forma de un sólido tostado, después de liofilización. MS experimental para $C_{22}H_{26}F_2N_8O$ como $(M+H)^+$ 419,5.

Ejemplo de Referencia 49. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(aminometil)piperidin-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



20 El compuesto anterior se preparó usando (1-(4-aminofenil)piperidin-4-il)metilcarbamato de terc-butilo (preparado a partir de 4-Fluoronitrobeneno) usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 48. MS experimental para $C_{23}H_{34}N_8O$ como $(M+H)^+$ 439,6.

Ejemplo 50. 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexil-amino)pirimidin-5-carboxamida



25 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-cloropirimidin-5-carboxilato de etilo **121.1**:

A una solución de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (1,4) (600 mg, 2,714 mmoles), en CH₃CN (12 mL), se añadió DIEA (0,750 mL, 4,313 mmol, 1,589 equiv), seguido por 4-(1H-1, 2, 4-triazol-1-il)anilina (465 mg, 2,902 mmol, 1,07 equiv). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h, luego se diluyó con agua (6 x) para precipitar ii. El producto sólido se recogió por filtración, se enjuagó con agua (100 mL) y se secó al aire; rendimiento, 850 mg (91%).

5 Ácido 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-cloropirimidin-5-carboxílico **121.2**:

A una solución de 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-cloropirimidin-5-carboxilato de etilo (ii) (870 mg, 2,523 mmoles), en THF (12 mL), se añadió LiOH 1 M (3,30 mL, 3,30 mmol, 1,30 equiv) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Luego, el THF se retiró por evaporador giratorio y la mezcla acuosa se acidificó con HCl 2 N hasta pH 2. El producto sólido precipitado se recogió por filtración, se enjuagó con agua y se secó al aire; rendimiento 712 mg (89%).

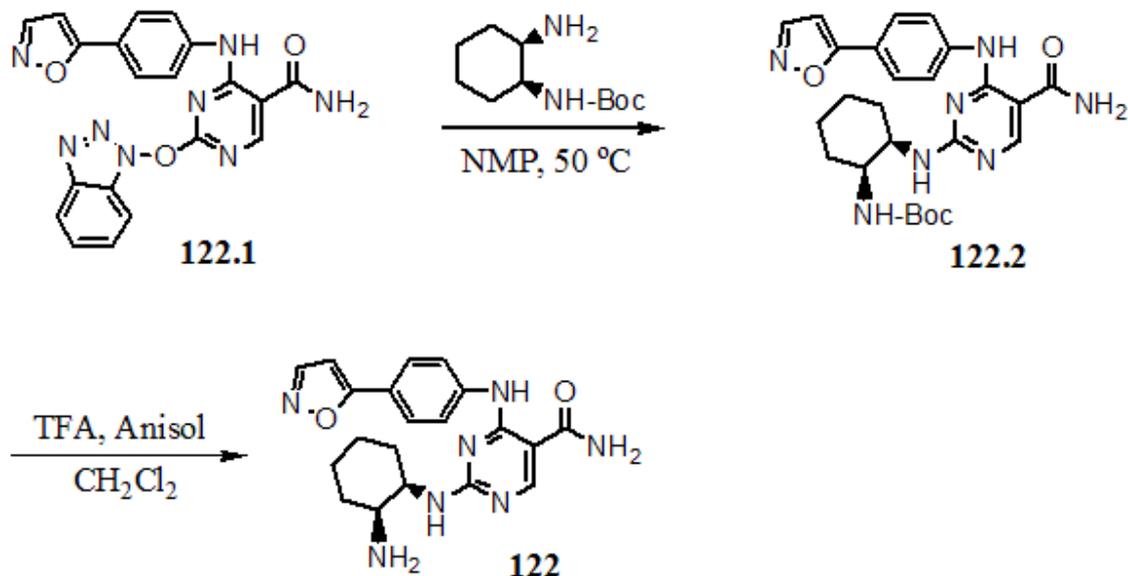
4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi) pirimidin-5-carboxamida **121.3**:

A una solución de ácido 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-cloropirimidin-5-carboxílico (iii) (730 mg, 2,305 mmoles) en DMF (15 mL), a temperatura ambiente, se añadió HOBt (470 mg, 3,478 mmol, 1,508 equiv) y EDC.HCl (690 mg, 3,599 mmol, 1,561 equiv) y la mezcla se agitó durante 45 minutos. Luego, se enfrió hasta 0°C y se trató con NH₃ 0,5 M en dioxano (14,0 ml, 7,0 mmol, 3,0 equiv) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 h. Luego, se diluyó con agua (7 x) para precipitar iv. Se recogió por filtración, se enjuagó con agua y se secó al aire; rendimiento 841 mg (88%). MS: 415,1 (M+H) y 437,1 (M+Na).

4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-pirimidin-5-carboxamida **121**:

A una solución de cis-ciclohexan-1,2-diamina (100 mg, 0,876 mmol, 6,08 equiv), en CH₃CN (1. 50 mL), se añadió 4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)pirimidin-5-carboxamida (iv) (60 mg, 0,144 mmoles) y la mezcla se agitó durante 19 horas. Luego, se diluyó con agua (8 x) y el producto sólido se recogió por filtración, se enjuagó con agua y se secó al aire. Se purificó por RP HPLC para obtenerlo en forma de su sal de TFA; rendimiento 59 mg (81%). MS: 394,1 (M+H) y 416,1 (M+Na).

Ejemplo 51. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(isoxazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida:



25

2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(4-(isoxazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida **122.1**: Este compuesto se preparó usando el procedimiento descrito para la síntesis de **121.3** a partir de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (1,4) y 4-(isoxazol-5-il)anilina.

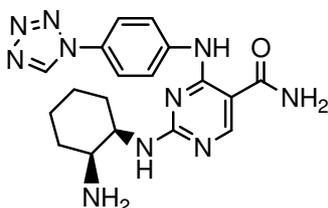
(1S,2R)-2-(5-carbamoil-4-(4-(isoxazol-5-il)fenilamino)pirimidin-2-ilamino)ciclohexilcarbamato de terc-butilo **122.2**:

5 El compuesto 210.1 (100 mg, 0,241 mmoles), en N-metilpirrolidinona (NMP) se mezcló con (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (0,3 mmol, 1,244 equiv) y DIEA (0,120 mL, 0,690 mmol, 2,83 equiv) y se calentó hasta 50°C durante 4 h. Luego, se dividió en EtOAc y agua. El extracto de EtOAc combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para obtener 210.2, que se usó como tal para la siguiente reacción.

2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(isoxazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida **122**:

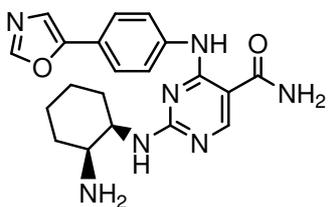
El **122.2** crudo se diluyó con CH₂Cl₂ (5 mL) y se añadió anisol (0,700 mL, exceso), seguido por CF₃COOH (5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y luego se concentró hasta sequedad. Se purificó por RP-HPLC para obtener 210 puro como puffs incoloros, 101 mg (83 %). MS: 394,3 (M + H).

10 Ejemplo 52. 4-(4-(1H-tetrazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(1H-tetrazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 395,28 (M + H).

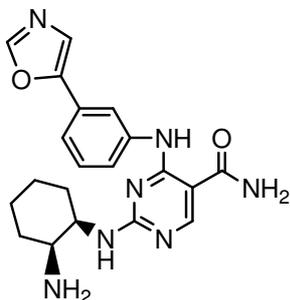
Ejemplo 53. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(oxazol-5-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



15

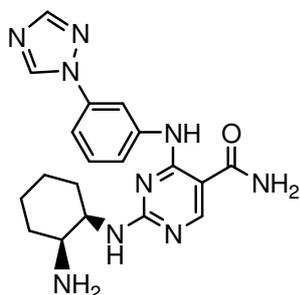
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(oxazol-5-il)anilina en la etapa 1.

Ejemplo 54. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(oxazol-4-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



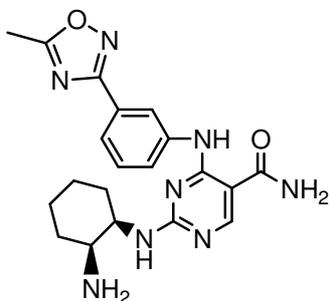
20 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(oxazol-4-il)anilina en la etapa 1. MS: 394,28 (M + H).

Ejemplo 55. 4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino) pirimidina 5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilina en la etapa 1. MS: 394,2 (M + H).

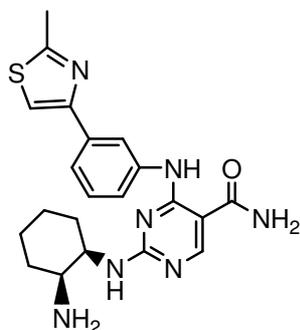
Ejemplo 56. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida:



5

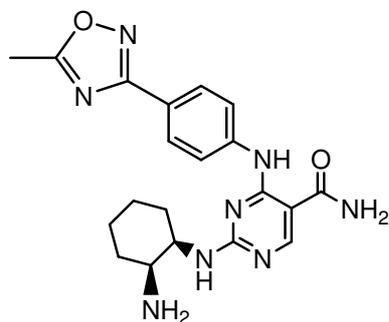
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)anilina en la etapa 1. MS: 409,28 (M + H).

Ejemplo 57. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2-metiltiazol-4-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



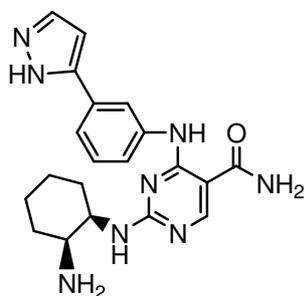
10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(2-metiltiazol-4-il)anilina en la etapa 1. MS: 424,37 (M + H).

Ejemplo 58. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)anilina en la etapa 1. MS: 409,5 (M + H).

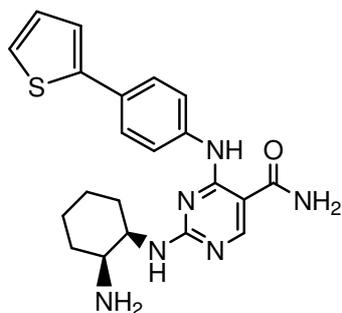
Ejemplo 59. 4-(3-(1H-pirazol-5-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino) pirimidin-5-carboxamida:



5

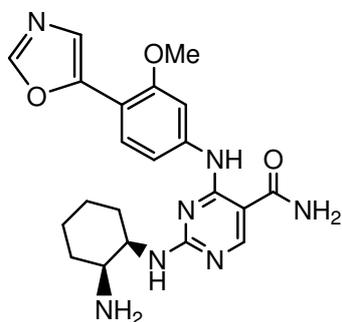
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(1H-pirazol-5-il)anilina en la etapa 1. MS: 393,0 (M + H).

Ejemplo 60. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tiofen-2-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



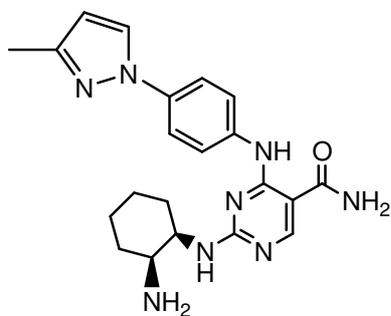
10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(tiofen-2-il)anilina en la etapa 1. MS: 410,0 (M+ H).

Ejemplo 61. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metoxi-4-(oxazol-5-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-metoxi-4-(oxazol-5-il)anilina en la etapa 1. MS: 424,5 (M + H).

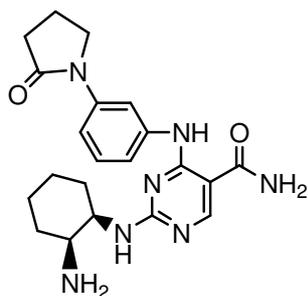
Ejemplo 62. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



5

Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(3-metil-1H-pirazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 407,5 (M + H).

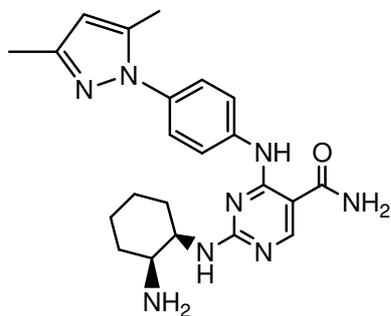
Ejemplo de Referencia 63. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2-oxopirrolidin-1-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



10

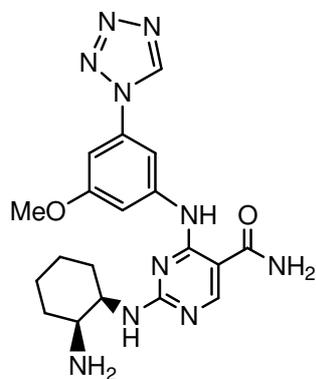
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 1-(3-aminofenil)pirrolidin-2-ona en la etapa 1. MS: 410,5 (M + H).

Ejemplo 64. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 421,5 (M + H).

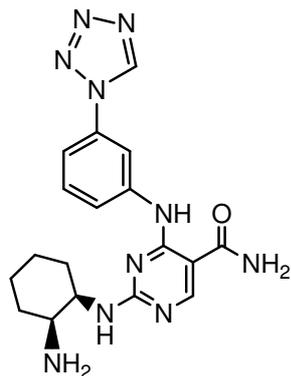
Ejemplo 65. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metoxi-5-(1H-tetrazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida:



5

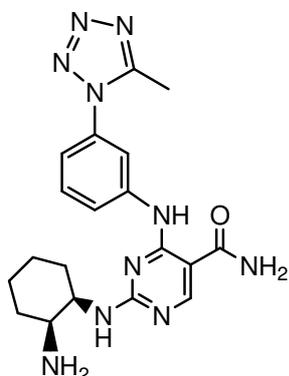
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-metoxi-5-(1H-tetrazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 425,4 (M + H).

Ejemplo 66. 4-(3-(1H-tetrazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida:



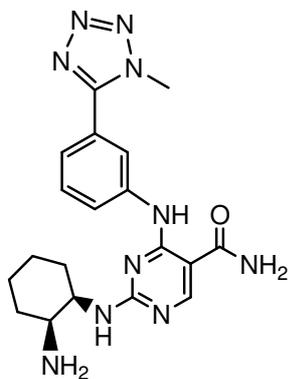
10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(1H-tetrazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 395,5 (M + H).

Ejemplo 67. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-metil-1H-tetrazol-1-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(5-metil-1H-tetrazol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 409,5 (M + H).

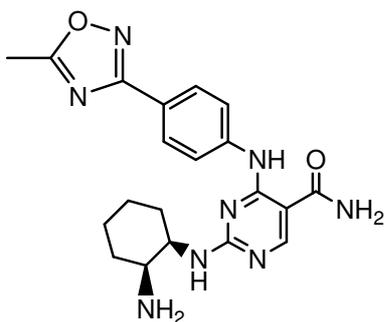
Ejemplo 68. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-tetrazol-5-il) fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



5

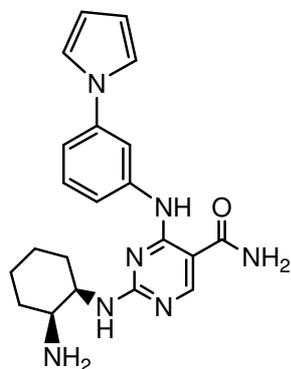
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto 122 y usando 3-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)anilina en la etapa 1. MS: 409,5 (M + H).

Ejemplo 69. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



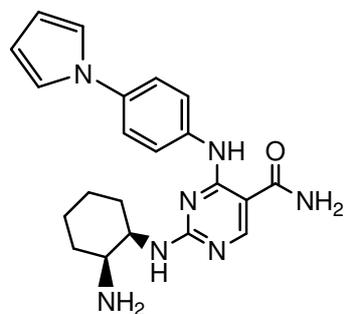
10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)anilina en la etapa 1. MS: 409,5 (M + H).

Ejemplo 70. 4-(3-(1H-pirrol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino) pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(1H-pirrol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 392,5 (M + H).

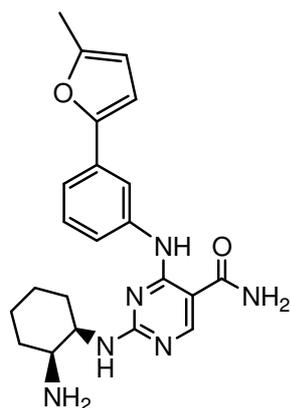
Ejemplo 71. 4-(4-(1H-pirrol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino) pirimidin-5-carboxamida:



5

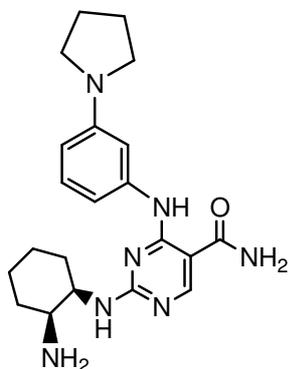
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(1H-pirrol-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 392,4 (M + H).

Ejemplo 72. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-metilfuran-2-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



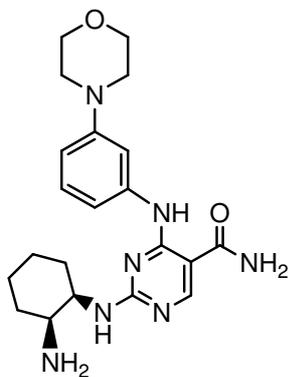
10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(5-metilfuran-2-il)anilina en la etapa 1. MS: 407,5 (M + H).

Ejemplo de Referencia 73. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirrolidin-1-il)fenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-(pirrolidin-1-il)anilina en la etapa 1. MS: 396,6 (M + H).

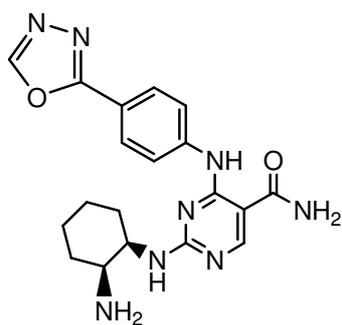
Ejemplo de Referencia 74. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-morfolinofenilamino) pirimidin-5-carboxamida:



5

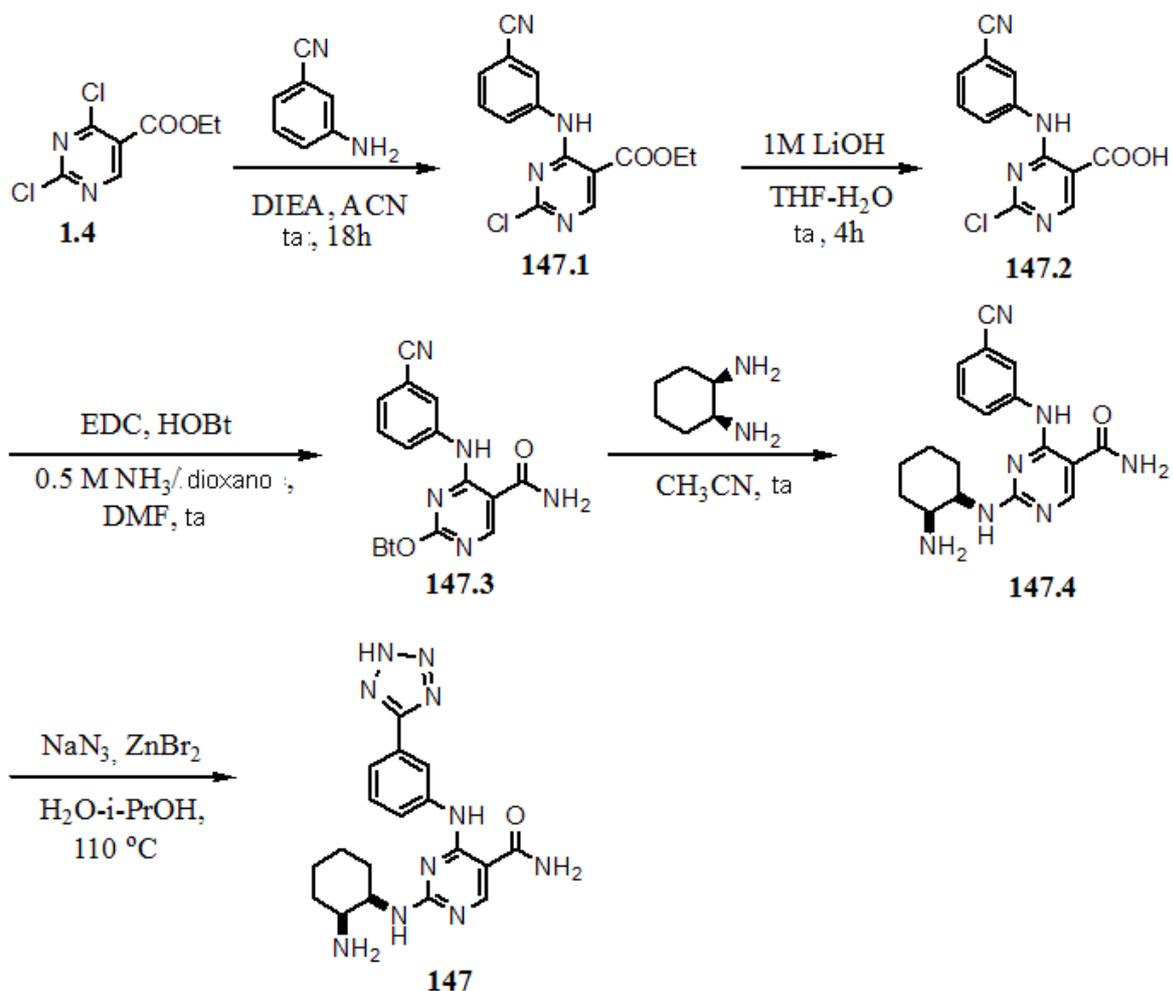
Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 3-morfolinoanilina en la etapa 1. MS: 412,5 (M + H).

Ejemplo 75. 4-(4-(1,3,4-oxadiazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida:



10 Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de compuesto **122** y usando 4-(1,3,4-oxadiazol-2-il)anilina en la etapa 1. MS: 395,3 (M + H).

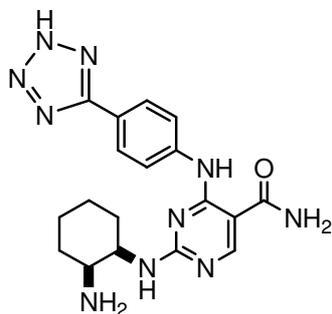
Ejemplo 76. 4-(3-(2H-tetrazol-5-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino) pirimidin-5-carboxamida:



El compuesto **147.4**: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-cianofenilamino)pirimidin-5-carboxamida se sintetizó usando el procedimiento descrito para la síntesis de Ejemplo 77. MS: 352,2 (M + H).

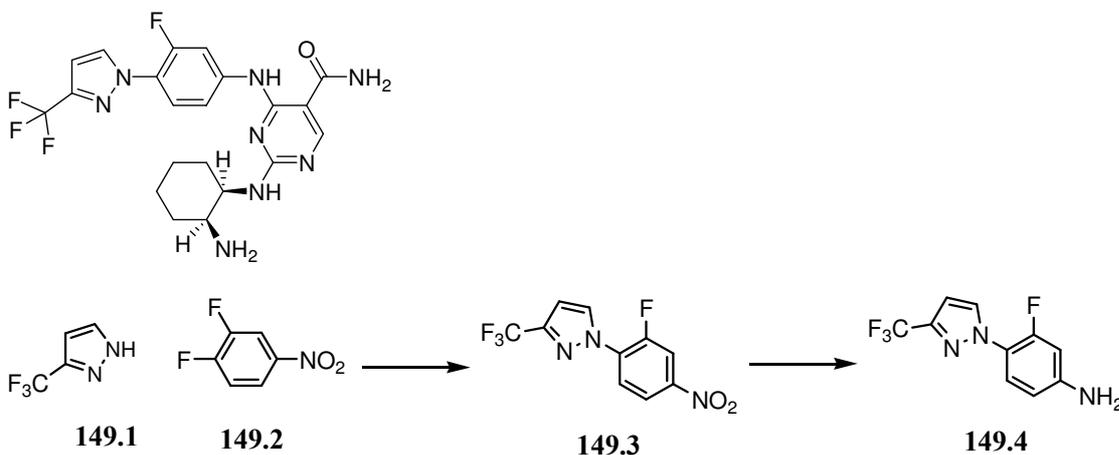
5 El compuesto **147**: 4-(3-(2H-tetrazol-5-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida se sintetizó haciendo reaccionar el compuesto **147.4** (75 mg, 0,213 mmoles), azida sódica (90 mg, 1,384 mmoles, 6,5 equiv) y bromuro de cinc (53 mg, 0,235 mmoles) en isopropanol/agua (1:1) (4 mL) se calentó hasta reflujo durante 14 horas, cuando un análisis de HPLC mostró una reacción completa. Luego, la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C y se acidificó con HCl 1 N hasta pH 1, se filtró a través de celite, el filtrado se concentró hasta sequedad para obtener el compuesto del título, 179, se purificó por RP-HPLC. MS: 395,1 (M + H), 417,2 (M + Na).

10 Ejemplo 78. 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida:



Este compuesto se sintetizó usando el esquema de síntesis descrito para la síntesis de Ejemplo 5 y usando 4-cianoanilina en la etapa 1. MS: 395.1 (M + H), 417,2 (M + Na).

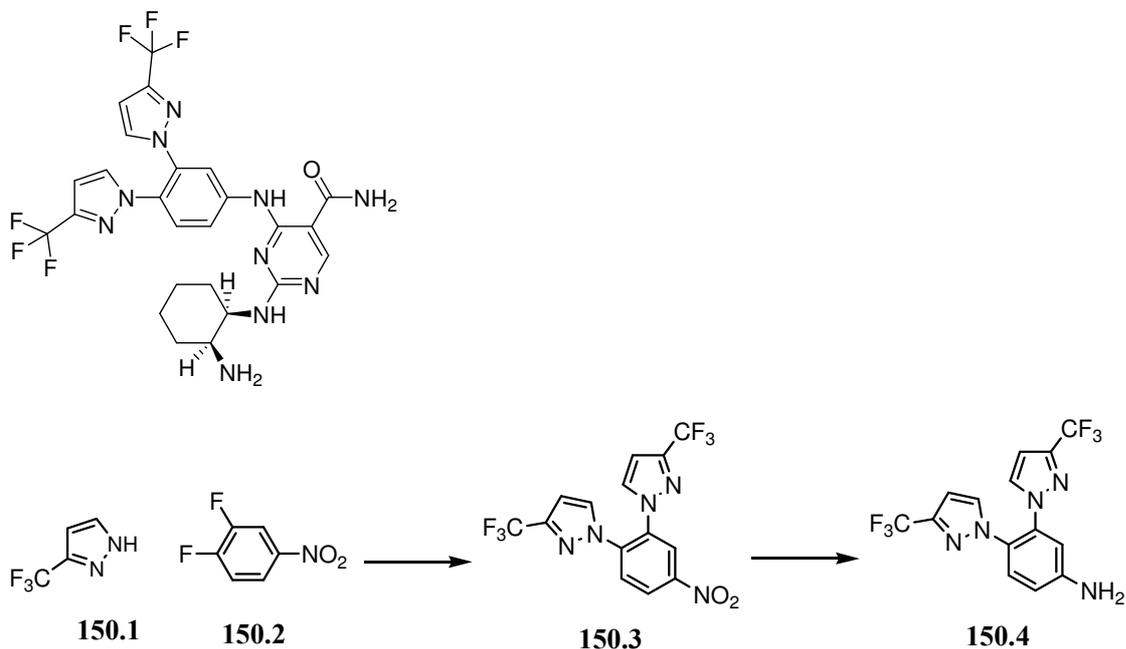
5 Ejemplo 79. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 La mezcla de trifluorometilpirazol **149.1** (1,00 g, 7,35 mmoles), 3,4-difluoro-1-nitrobenceno **149.2** (0,68 mL, 6,13 mmoles) y carbonato de cesio (3,00 g, 9,2 mmoles) en 20 mL de DMF seca se agitó en 50°C de baño durante 4 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua 4 veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **149.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **149.4**. MS experimental para C₁₀H₇F₄N₃ como (M+H)⁺ 246,3. Se purificó usando columna flash.

15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con anilina **149.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₁H₂₂F₄N₈O como (M+H)⁺ 479,3. UV λ=243. 302 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,47 (s, 1H), 8,07 (s amplio, 1H), 7,84 (m, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,39 (m, 1H), 6,74 (d, J=2,0 Hz, 1H), 4,33 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 1,83-1,49 (m, 8H) ppm.

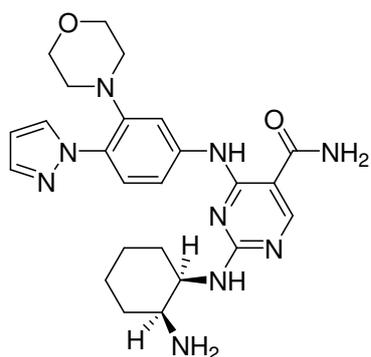
20 Ejemplo 80. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3,4-bis(3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



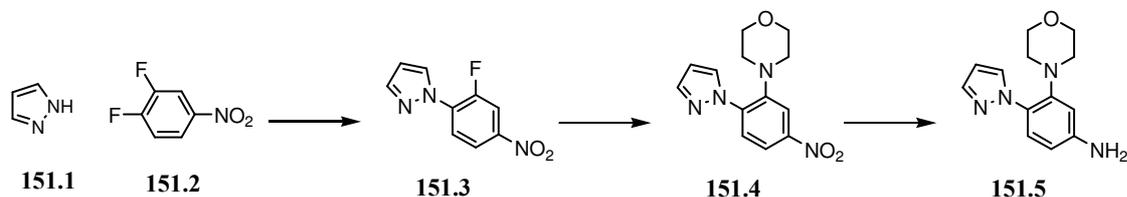
5 La mezcla de trifluorometilpirazol **150.1** (2,00 g, 14,7 mmoles), 3,4-difluoro-1-nitrobenzono **150.2** (1,17 g, 7,3 mmoles) y carbonato de cesio (5,5 g, 17 mmoles) en 30 mL de DMF seca se agitó en baño a 50°C durante la noche. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua cuatro veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **150.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **150.4**. MS experimental para C₁₄H₉F₆N₅ como (M+H)⁺ 362,2. Se purificó usando columna flash.

10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **150.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₅H₂₄F₆N₁₀O como (M+H)⁺ 595,3. UV λ=246, 301 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,61 (s, 1H), 8,45 (s amplio, 1H), 7,78-7,65 (m, 4H), 6,75 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,72 (d, J=2,4 Hz, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 1,86-1,48 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 81. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-morfolino-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

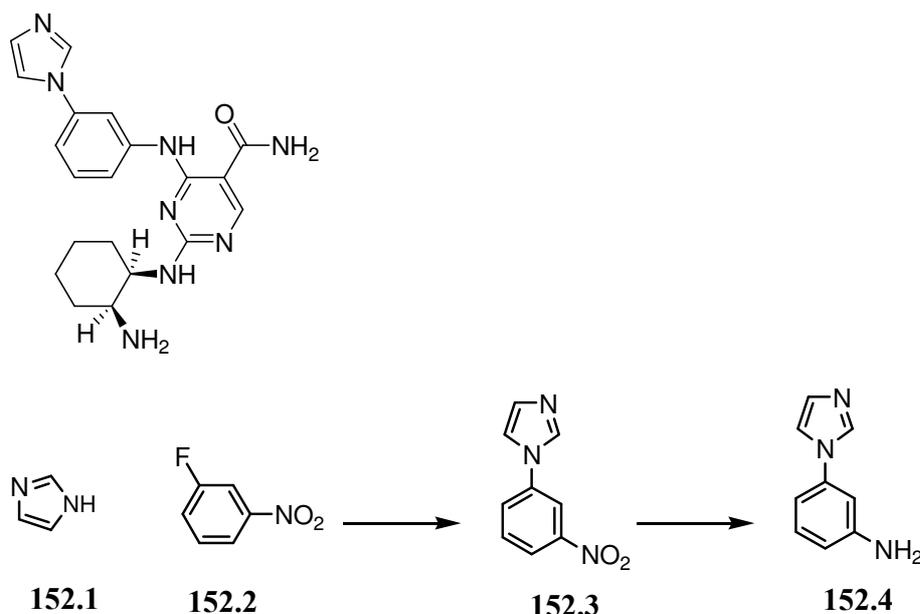


15



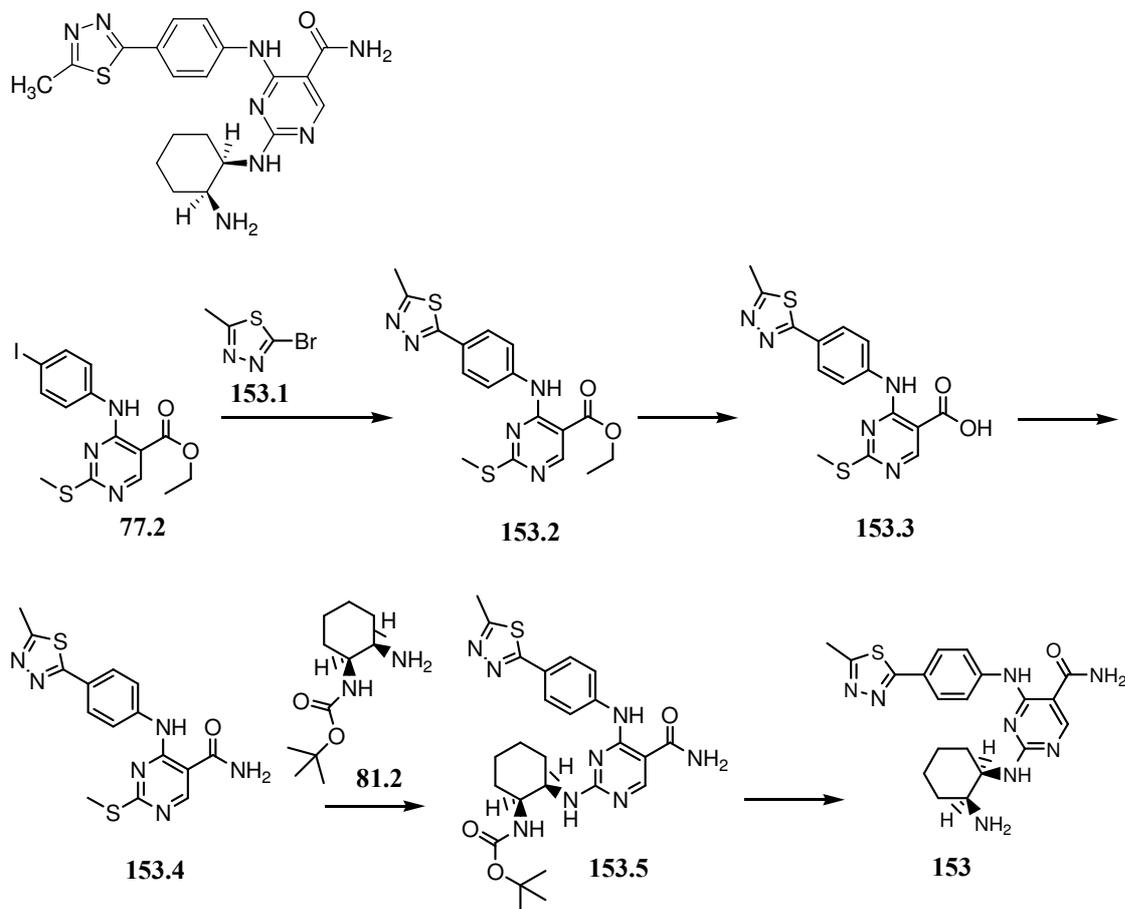
- La mezcla de pirazol **151.1** (0,50 g, 7,4 mmoles), 3,4-difluoro-1-nitrobenceno **151.2** (0,68 mL, 6,1 mmoles) y carbonato de cesio (3,0 g, 9,2 mmoles) en 15 mL de NMP seco se agitó en un tubo sellado en un baño a 80°C durante 3 horas para dar el compuesto **151.3**. Al tubo sellado de reacción se añadió luego morfolina (1,6 mL, 18,4 mmoles). La mezcla se agitó en baño de 120°C durante 24 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua cuatro veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **151.4**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **151.5**. MS experimental para C₁₃H₁₆N₄O como (M+H)⁺ 245,2. Se purificó usando columna flash.
- 10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con anilina **151.5** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₄H₃₁N₉O₂ como (M+H)⁺ 478,3. UV λ=247 nm.

Ejemplo 82. 4-(3-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 15 La mezcla de imidazol **152.1** (0,64 g, 9,4 mmoles), 3-fluoro-1-nitrobenceno **152.2** (0,50 mL, 4,7 mmoles) y carbonato de cesio (3,1 g, 9,4 mmoles) en 15 mL de NMP seco se agitó en un tubo sellado en baño de 120°C durante 3 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua cuatro veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **152.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **152.4**. MS experimental para C₉H₉N₃ como (M+H)⁺ 160,1.
- 20 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **152.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₄H₃₁N₉O₂ como (M+H)⁺ 478,3. UV λ=241 nm.

Ejemplo 83. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Etapa 1: El yodobenceno **77.2** (500 mg, 1,2 mmoles) se disolvió en 12 mL de dioxano en un tubo sellado. A ello se añadieron bromotiadiazol **153.1** (240 mg, 1,3 mmoles), hexametildistaño (0,25 mL, 1,2 mmoles) y Pd(PPh₃)₄ (280 mg, 0,24 mmoles). La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 minutos y se agitó en un baño a 110°C durante 90 min. Se concentró al vacío y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto **153.2** (130 mg, 28%). MS experimental para C₁₇H₁₇N₅O₂S₂ como (M+H)⁺ 388,1.

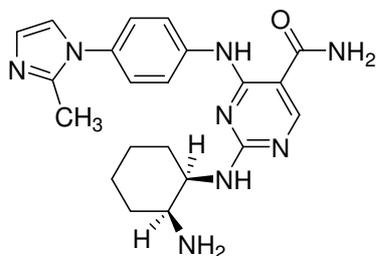
10 Etapa 2: El éster etílico **153.2** (130 mg, 0,34 mmoles) se disolvió en 20 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (42 mg, 1,0 mmoles) y 3 mL de agua. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se concentró al vacío para eliminar THF y se trató con cuidado con HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 3. Un sólido amarillo se trituró de la solución. Se aisló usando un embudo de Büchner, se lavó con agua fría, se secó en horno de vacío para dar el compuesto **153.3**. MS experimental para C₁₅H₁₃N₅O₂S₂ como (M+H)⁺ 360,1.

15 Etapa 3: El ácido carboxílico **153.3** (0,34 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron hidrócloruro de EDC (100 mg, 0,51 mmoles) e hidrato de HOBt (70 mg, 0,51 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 3,4 mL, 1,7 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche. Luego se concentró al vacío para eliminar dioxano. La mezcla luego se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto **153.4** (22 mg, 18% para 2 etapas). MS experimental para C₁₅H₁₄N₆OS₂ como (M+H)⁺ 359,1.

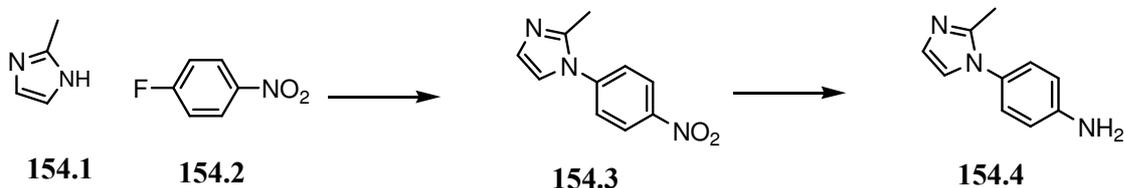
20 Etapa 4: El compuesto **153.4** (22 mg, 0,06 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 21 mg, 0,072 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A ello se añadieron luego una solución de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2** (0,3 M, 0,4 mL, 0,12 mmoles) y DIEA (31 µL, 0,18 mmoles). La mezcla se agitó durante 80 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución acuosa saturada de Na₂CO₃ dos veces y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo **153.5**. MS experimental para C₂₅H₃₂N₈O₃S como (M+H)⁺ 525,3.

Etapa 5: El compuesto **153.5** se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 1 hora. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 425,3. UV $\lambda=241, 319$ nm.

Ejemplo 84. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(2-metil-1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5



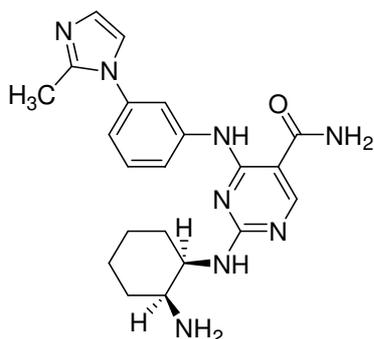
10

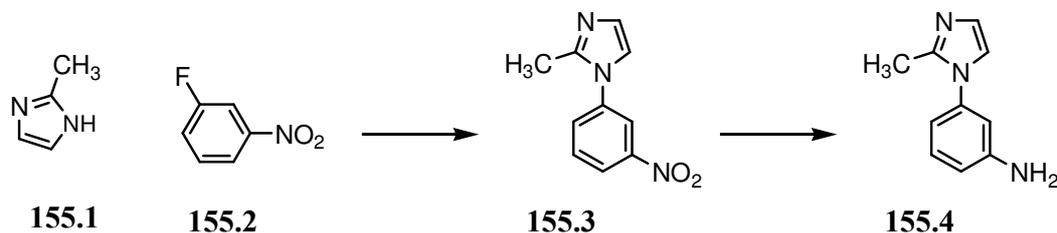
La mezcla de 2-metilimidazol **154.1** (1,52 g, 18,6 mmoles), 4-fluoro-1-nitrobenceno **154.2** (1,0 mL, 9,4 mmoles) y carbonato de potasio (1,30 g, 9,4 mmoles) en 20 mL de DMF seca se agitó en un baño a 100°C durante la noche. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua 4 veces. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **154.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **154.4**. MS experimental para $C_{10}H_{11}N_3$ como $(M+H)^+$ 174,1. Se purificó usando columna flash.

15

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **154.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,3. UV $\lambda=246, 293$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,60 (s, 1H), 7,96 (m, 2H), 7,70 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 7,66-7,61 (m, 4H), 4,47 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 2,60 (s, 3H), 1,92-1,59 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 85. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2-metil-1H-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

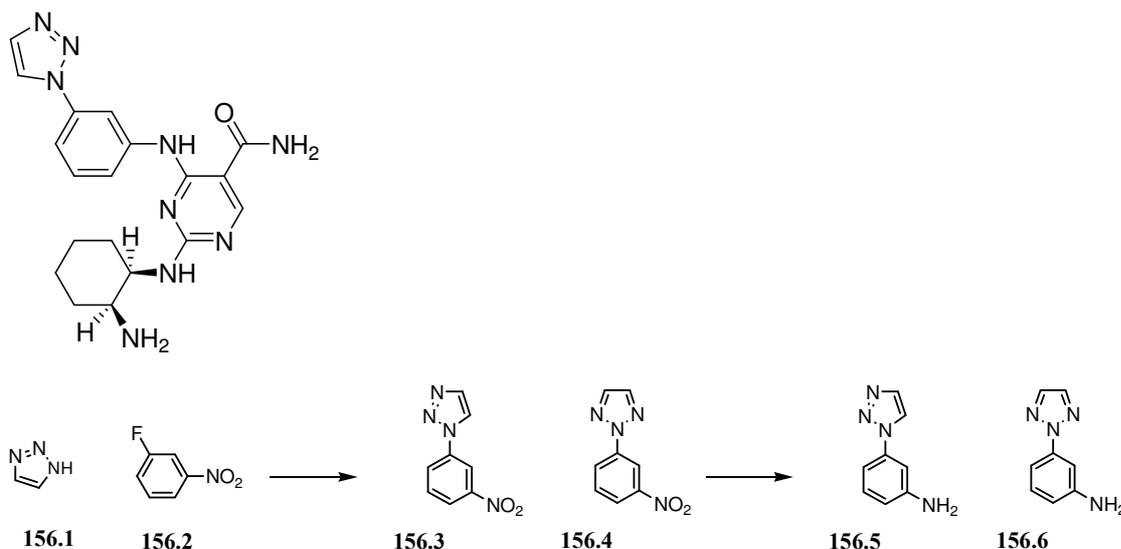




La mezcla de 2-metilimidazol **155.1** (0,77 g, 9,4 mmoles), 3-fluoro-1-nitrobenceno **155.2** (0,50 mL, 4,7 mmoles) y carbonato de cesio (3,07 g, 9,4 mmoles) en 15 mL de NMP seco se agitó en baño de 120°C durante 6 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua 4 veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **155.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **155.4**. MS experimental para C₁₀H₁₁N₃ como (M+H)⁺ 174,1. Se purificó usando columna flash.

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **155.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₁H₂₆N₈O como (M+H)⁺ 407,3. UV λ=243. 285 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,58 (s, 1H), 8,06 (m, 1H), 7,83 (m, 1H), 7,73-7,71 (m, 2H), 7,64 (m, 1H), 7,44 (m, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 1,89-1,55 (m, 8H) ppm.

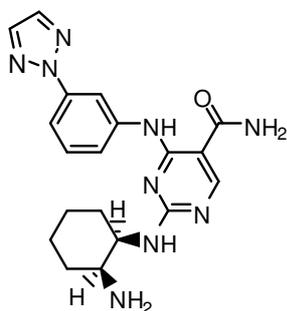
Ejemplo 86. 4-(3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



La mezcla de 1H-1,2,3-triazol **156.1** (0,55 mL, 9,4 mmoles), 3-fluoro-1-nitrobenceno **156.2** (0,50 mL, 4,7 mmoles) y carbonato de cesio (3,07 g, 9,4 mmoles) en 15 mL de NMP seco se agitó en baño de 120°C durante 17 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua 4 veces. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró para obtener una solución de productos crudos **156.3 y 156.4** en una relación de casi 1:1. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener anilinas crudas **156.5 y 156.6**. MS experimental para C₈H₈N₄ como (M+H)⁺ 161,1. Las dos anilinas se purificaron usando columna flash.

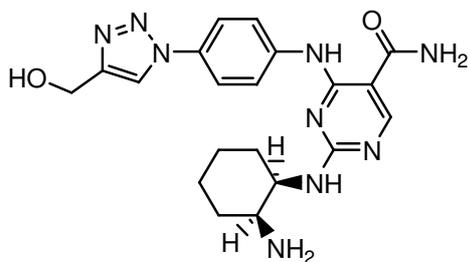
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **156.5** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₁₉H₂₃N₉O como (M+H)⁺ 394,3. UV λ=244 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,90 (s, 1H), 8,63 (d, J=1,2 Hz, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,95 (d, J=1,2Hz, 1H), 7,62-7,58 (m, 2H), 7,43 (m, 1H), 4,68 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 1,91-1,53 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 87. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



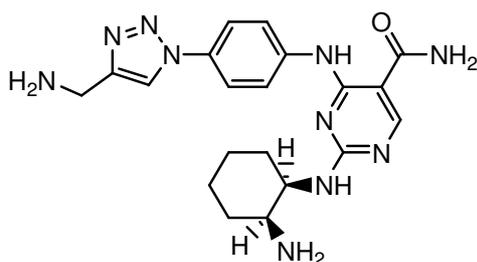
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **156.6** (mostrada en el Ejemplo 86) para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,3. UV $\lambda=250$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,77 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,88 (s, 2H), 7,83 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,45 (dd, $J=8,4, 8,0$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 1,82-1,43 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 88. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



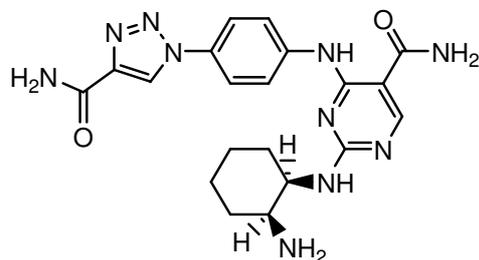
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el esquema (Ejemplo 45) con alcohol propárgilico para reemplazar trimetilsililacetileno. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 424,3. UV $\lambda=242, 300$ nm.

Ejemplo 89. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



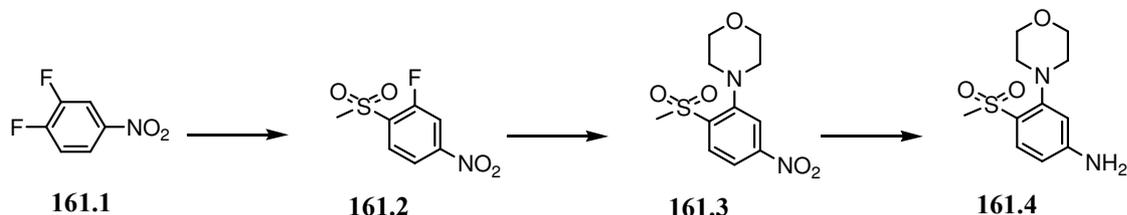
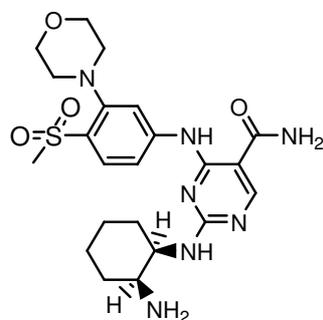
15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el esquema (Ejemplo 45) con propargilamina para reemplazar trimetilsililacetileno. MS experimental para $C_{20}H_{26}N_{10}O$ como $(M+H)^+$ 423,3. UV $\lambda=242, 301$ nm.

Ejemplo 90. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(carbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el esquema (Ejemplo 45) con amida de ácido propinoico para reemplazar trimetilsililacetileno. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_{10}O_2$ como $(M+H)^+$ 437,3. UV $\lambda=242, 300$ nm.

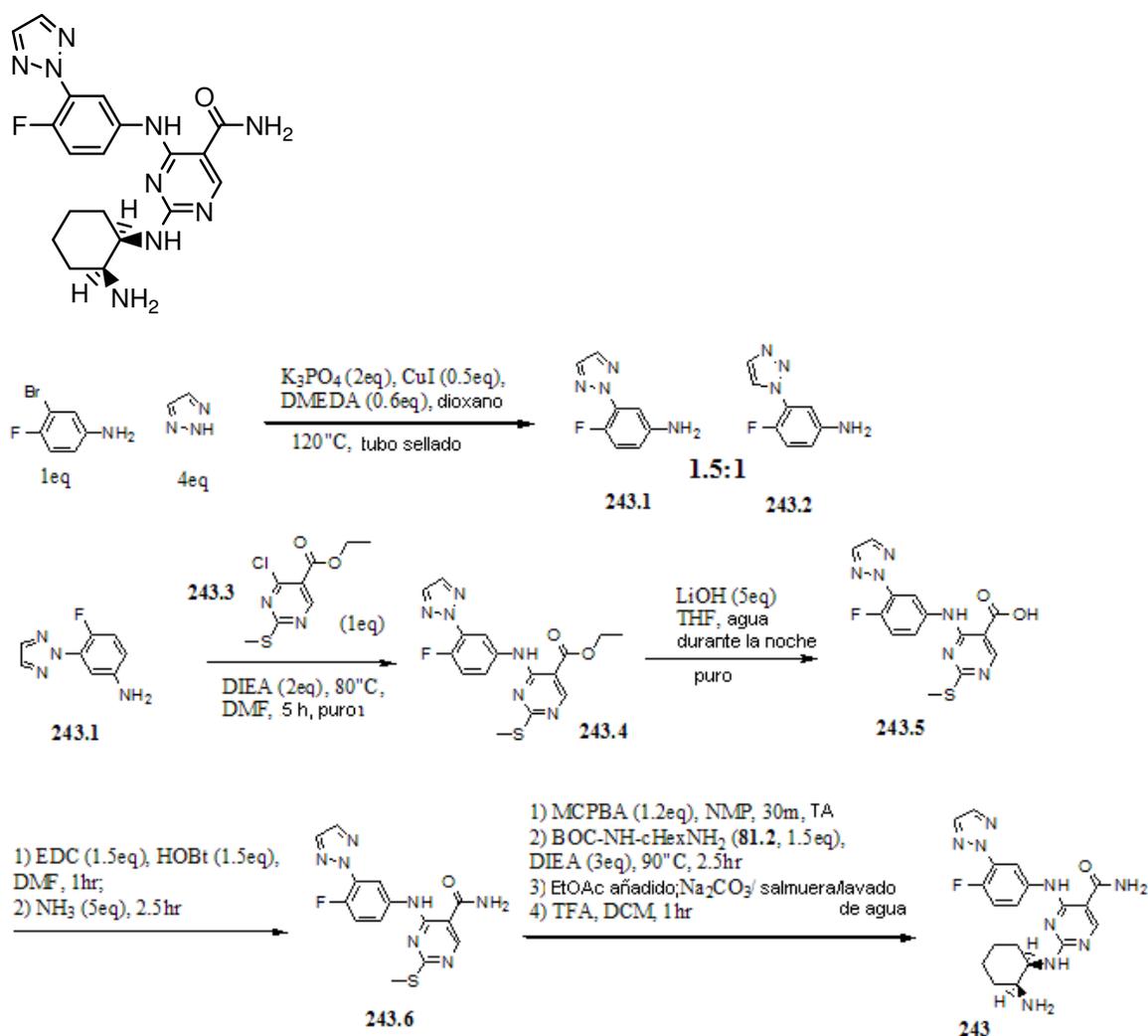
- 5 Ejemplo de Referencia 91. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(metilsulfonyl)-3-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 10 La mezcla de tiometóxido de sodio (2,85 g, 40,6 mmoles) y 3,4-difluoro-1-nitrobenzene **161,1** (3,0 mL, 27,1 mmoles) en 20 mL de NMP seco se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y se lavó con agua cuatro veces. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró al vacío y se disolvió en 270 mL de DCM. A ello se añadió MCPBA (65%, 14,3 g, 54 mmoles) en pequeñas porciones. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, se diluyó con más DCM, se lavó con $NaOH$ 0,1 N tres veces y salmuera. Esta solución se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para dar **161.2** crudo.
- 15 El **161.2** crudo (490 mg, 2,2 mmoles) se disolvió en 10 mL de NMP seco. A ello se añadió morfolina (1,2 mL, 6,6 mmoles). La mezcla se agitó en un baño a $60^\circ C$ durante 1 hora. Se diluyó con acetato de etilo 300 mL, se lavó con salmuera tres veces, se secó sobre $MgSO_4$ y se filtró para obtener una solución de producto crudo **161.3**. A esta solución se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión agitada en un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda **161.4**. MS experimental para $C_{11}H_{16}N_2O_3S$ como $(M+H)^+$ 257,1. Se purificó usando columna flash.
- 20

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con anilina **161.4** para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{22}H_{31}N_7O_4S$ como $(M+H)^+$ 490,3. UV $\lambda=249, 301$ nm.

Ejemplo 92. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-fluoro-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Etapa 1: La mezcla de 3-bromo-4-fluoroanilina (860 mg, 4,53 mmoles), 1,2,3-triazol (1,05 mL, 18,1 mmoles), K₃PO₄ (1,92 g, 9,06 mmoles), CuI (430 mg, 2,27 mmoles), N,N'-dimetiletilendiamina (0,29 mL, 2,72 mmoles) en 10 mL de dioxano y 5 mL de DMSO se agitó en un tubo sellado a 120°C durante 5 días. Se obtuvo una mezcla de **243.1** y **243.2** (en relación de 1,5:1) junto con materiales de partida restantes. A la mezcla se vertió EtOAc 250 mL. Se agitó vigorosamente, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró al vacío y se sometió a columna flash. El compuesto **243.1** dejó la columna a 70% de EtOAc en hexano y el compuesto **243.2** a 90% EtOAc en hexano.

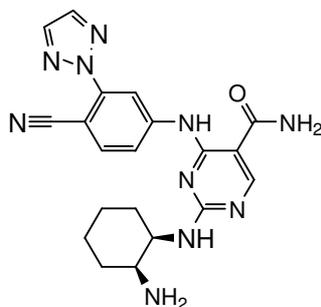
10 Etapa 2: A la mezcla de anilina **243.1** (255 mg, 1,44 mmoles) y 4-cloro-2-metilto-5-pirimidincarboxilato de etilo (**243.3**, CAS 5909-24-0, 336 mg, 1,44 mmoles) en 15 mL de DMF se añadió DIEA (0,5 mL, 2,88 mmoles). La mezcla se agitó a 85°C durante 5 horas. A ello se añadió 250 mL de EtOAc, se lavó con salmuera x3, se secó, se filtró y se concentró al vacío para obtener el compuesto **243.4** con rendimiento cuantitativo. MS experimental para C₁₆H₁₅FN₆O₂S como (M+H)⁺ 375,1.

15 Etapa 3: El compuesto preparado con anterioridad (1,44 mmoles) se disolvió en 80 mL de THF y 10 mL de agua. A ello se añadió hidrato de LiOH (302 mg, 7,2 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche. Se concentró al vacío para eliminar THF. Al residuo se añadió HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 2. El producto sólido se aisló por filtración. Se lavó bien con agua fría y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **243.5** con rendimiento cuantitativo en forma de un sólido tostado. MS experimental para C₁₄H₁₁FN₆O₂S como (M+H)⁺ 347,1.

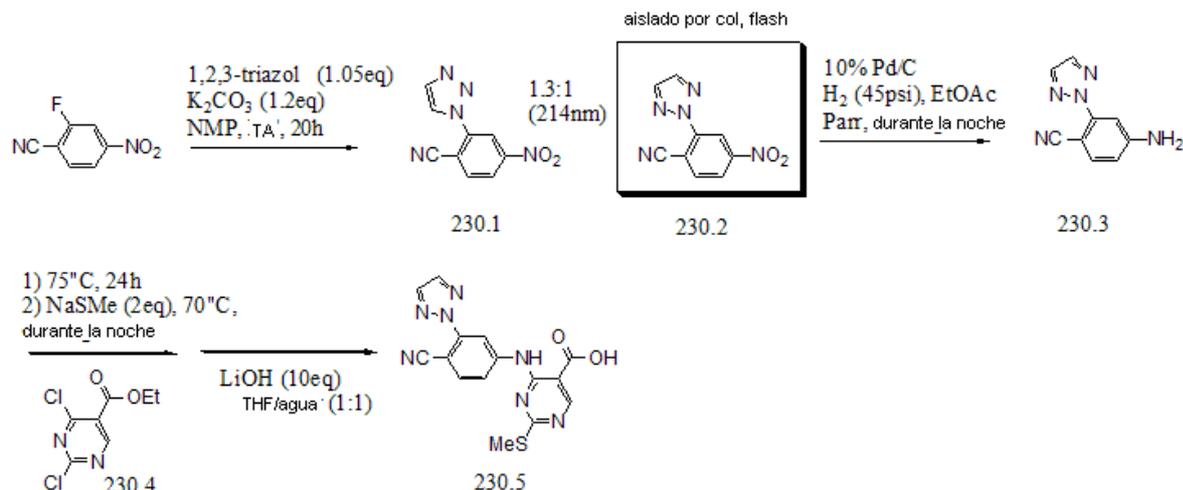
Etapa 4: El compuesto antes preparado **243.5** (468 mg, 1,35 mmoles) se agitó en 25 mL de DMF. A ello se añadieron EDC.HCl (390 mg, 2,03 mmoles) e hidrato de HOBt (311 mg, 2,03 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 h y el HPLC indicó que todo el material de partida **243.5** se había consumido. A esta mezcla se añadió luego amoniaco (solución 0,5 N en dioxano, 8,1 mL, 4,05 mmoles). La mezcla se agitó durante 3 horas y se concentró al vacío para eliminar dioxano. Se añadió agua al residuo y el sólido se trituró. Este sólido se aisló por filtración, se lavó con agua fría bien y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **243.6** en forma de un sólido tostado. MS experimental para $C_{14}H_{12}FN_7OS$ como $(M+H)^+$ 346,1.

Etapa 5: El compuesto antes preparado **243.6** (100 mg, 0,29 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 92 mg, 0,35 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener una mezcla del correspondiente sulfóxido y sulfona. A ello se añadieron luego DIEA (160 μ L, 0,90 mmoles) y luego (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (**81.2**, 94 mg, 0,45 mmoles). La mezcla se agitó durante 3 horas en baño a 90°C. Luego se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con Na_2CO_3 saturado y salmuera x2, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró al vacío. El residuo luego se expuso a mezcla 1:1 de TFA y DCM durante 1 h. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título **243**. MS experimental para $C_{19}H_{22}FN_9O$ como $(M+H)^+$ 412,3. UV $\lambda=247$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,58 (m, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,05 (s, 2H), 7,45-7,43 (m, 2H), 4,53 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 1,86-1,54 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 93. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-ciano-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



20

Etapa 1: El 2-fluoro-4-nitrobenzonitrilo (2,98 g, 18 mmoles) se disolvió en 40 mL de NMP. A ello se añadieron 1,2,3-triazol (1,1 mL, 18,8 mmoles) y K_2CO_3 (2,98 g, 21,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h para dar el compuesto 230.1 y 230.2 (menos polar) en relación 1,3:1. La mezcla se extrajo en acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera x3. Se secó, se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto deseado 230.2 usando 20% acetato de etilo en hexano.

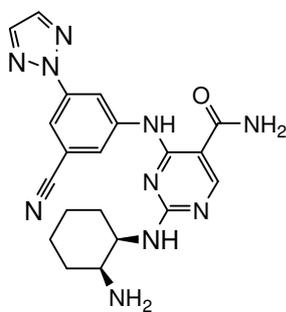
25

Etapa 2: El compuesto 230.2 de la Etapa 1 se disolvió en 300 mL de acetato de etilo. A ello se añadió 500 mg de Pd/C al 10%. La mezcla se colocó en un agitador Parr bajo 45 psi de presión de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite, que se lavó bien usando metanol. El filtrado se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar anilina 230,3 (0,59 g, 18% para 2 etapas).

- 5 Etapa 3: El compuesto 230,4 (0,66 g, 3,0 mmoles) se disolvió en 20 mL de NMP. A ello se añadieron compuesto 230.3 (0,55 g, 3,0 mmoles) y luego DIEA (0,78 mL, 4,5 mmoles). La mezcla se agitó a 75°C durante 24 h. A ello se añadió luego NaSMc (0,42 g, 6,0 mmoles). La mezcla se agitó a 70°C durante la noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x 4, se secó, se concentró al vacío. El residuo luego se disolvió en 50 mL de THF. A ello se añadieron LiOH.H₂O (1,26 g, 30 mmoles) y 50 mL de agua. La mezcla se agitó durante 90 min a temperatura ambiente.
- 10 Se acidificó usando HCl 6 N hasta que el pH alcanzó 2. El precipitado sólido se recogió por filtración. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío. Era el compuesto crudo 230.5.

El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 93 usando el compuesto 230.5. MS experimental para C₂₀H₂₂N₁₀O como (M+H)⁺ 419,4. UV λ=259, 314 nm.

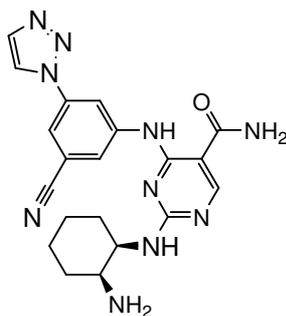
Ejemplo 94. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-ciano-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 92. MS experimental para C₂₀H₂₂N₁₀O como (M+H)⁺ 419,3. UV λ=252 nm. RMN (CD₃OD): δ 9,03 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,16 (m, 1H), 8,02 (s, 2H), 7,91 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 1,94-1,58(m, 8H) ppm.

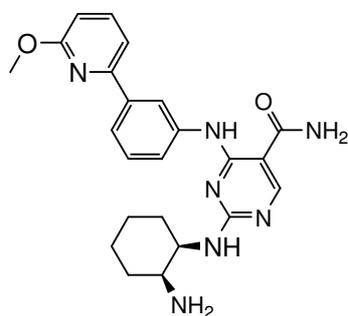
Ejemplo 95. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-ciano-5-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



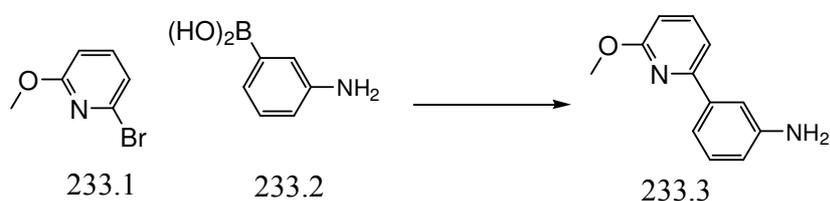
20

El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 93. MS experimental para C₂₀H₂₂N₁₀O como (M+H)⁺ 419,4. UV λ=244, 288 nm. RMN (CD₃OD): δ 9,15 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 7,99-7,97 (m, 3H), 4,67 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 1,90-1,58(m, 8H) ppm.

Ejemplo 96. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(6-metoxipiridin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



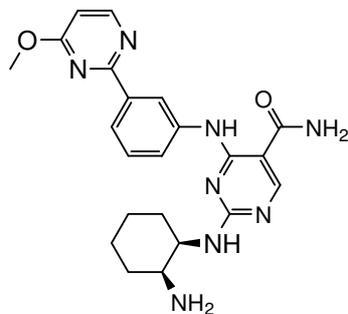
Esquema:



5 El compuesto asequible en comercios 233.1 (2,3 g, 12,2 mmoles) y ácido borónico 233,2 (1,68 g, 12,2 mmoles) se colocaron en 40 mL de dioxano y 20 mL de agua. A ello se añadieron K_2CO_3 (5,05 g, 36,6 mmoles) y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$ (0,86 g, 1,22 mmoles). La mezcla se burbujeó con corriente de argón durante 3 min y se mandó a baño de 85°C bajo argón. La mezcla se agitó durante 90 min. Se concentró al vacío para eliminar dioxano. La mezcla se extrajo con cloroformo x4. El extracto orgánico se secó y se concentró al vacío para obtener la anilina cruda 233.3.

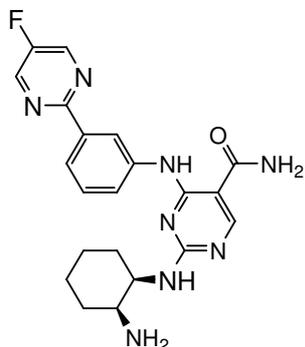
10 El compuesto del título luego se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 86 usando anilina 233.3. MS experimental para $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_2$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 434,4. UV $\lambda=245, 296$ nm.

Ejemplo 97. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metoxipirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



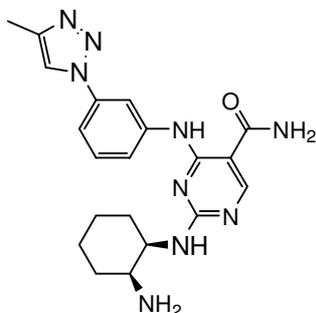
15 El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 96. MS experimental para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_8\text{O}_2$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 435,4. UV $\lambda=250$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,53 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,92(m, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,54-7,50 (m, 3H), 6,79 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,64 (m, 1H), 1,85-1,36 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 98. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-fluoropirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo 96. MS experimental para $C_{21}H_{23}FN_8O$ como $(M+H)^+$ 423,3. UV $\lambda=249$ nm.

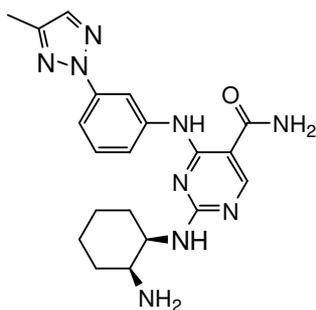
Ejemplo 99. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

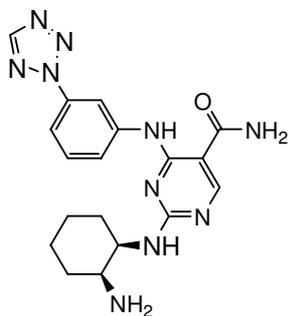
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 86. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV $\lambda=245$ nm.

Ejemplo 100. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

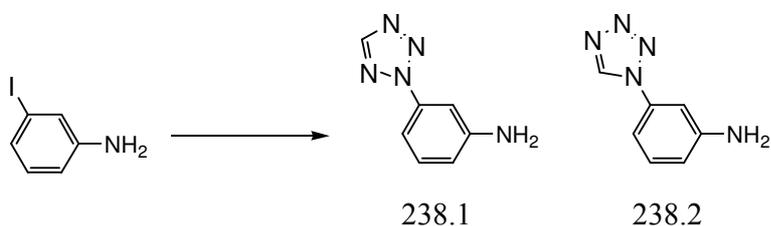


10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 87. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV $\lambda=251$ nm.

Ejemplo 101a. 4-(3-(2H-tetrazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



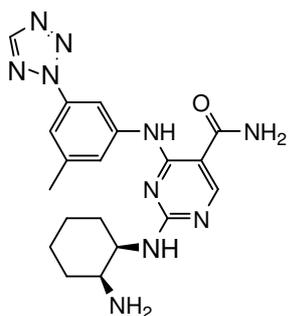
Esquema:



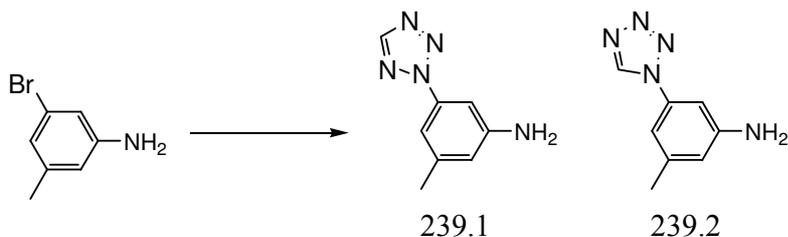
5 La mezcla de 3-yodoanilina (0,5 mL, 4,2 mmoles), tetrazol (0,88 g, 12,6 mmoles), K_3PO_4 (2,67 g, 12,6 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles), DMEDA (0,27 mL, 2,5 mmoles) en 6 mL de dioxano y 6 mL de DMSO se agitó a 105°C en un recipiente sellado durante 3 días para dar limpiamente una mezcla de anilina 238.1 (menos polar) y 238.2 en la relación de 17:1 (determinada por HPLC). Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera x2. Se secó, se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar anilina 238.1 usando 40% acetato de etilo en hexano.

10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_{10}O$ como $(M+H)^+$ 395.4. UV $\lambda=250$ nm. RMN (CD_3CN): δ 9,02 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 7,98 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,67-7,53 (m, 3H), 4,83 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 1,8-1,4 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 101b. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-5-(2H-tetrazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:

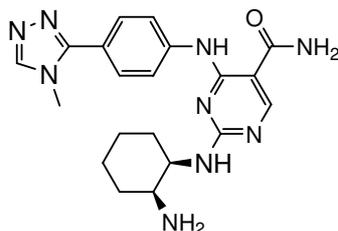


15

La mezcla de 3-bromo-5-metil-anilina.HCl (0,94 g, 4,2 mmoles), tetrazol (0,88 g, 12,6 mmoles), K_3PO_4 (4,45 g, 21 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles), DMEDA (0,27 mL, 2,5 mmoles) en 6 mL de dioxano y 6 mL de DMSO se agitó a $105^\circ C$ en un recipiente sellado durante 3 días para dar limpiamente de modo exclusivo anilina 239.1. La anilina 239.2 no se encontró por HPLC/LCMS. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera x2. Se secó, se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar anilina 239.1 usando 40% acetato de etilo en hexano.

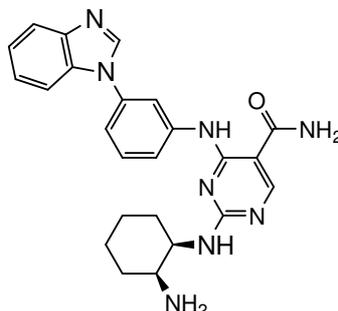
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_{10}O$ como $(M+H)^+$ 409,4. UV $\lambda=250$ nm. RMN (CD_3CN): δ 8,85 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 4,83 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 2,50 (s, 3H), 1,8-1,4 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 102. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

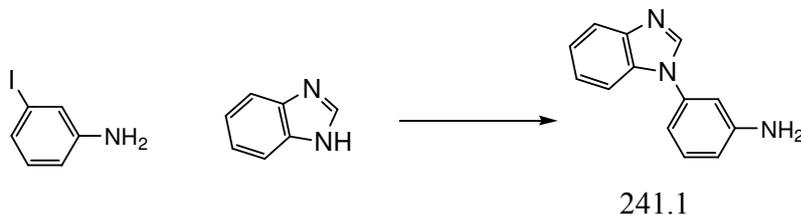


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86 con la correspondiente anilina. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV $\lambda=246, 304$ nm.

Ejemplo 103. 4-(3-(1H-benzo[d]imidazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



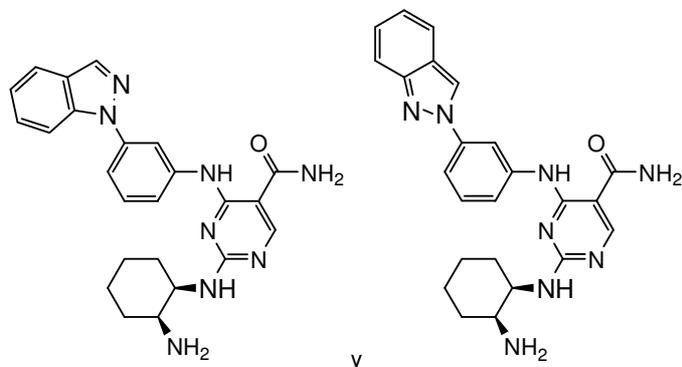
15 Esquema:



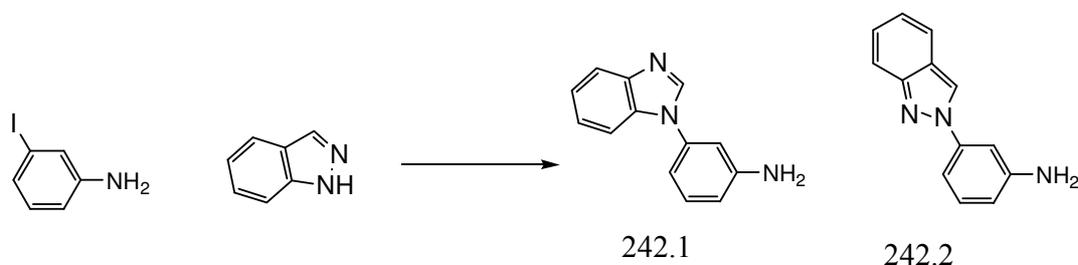
La mezcla de 3-yodoanilina (0,5 mL, 4,2 mmoles), bencimidazol (1,5 g, 12,6 mmoles), K_3PO_4 (2,67 g, 12,6 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles), DMEDA (0,27 mL, 2,5 mmoles) en 6 mL de dioxano y 6 mL de DMSO se agitó en un recipiente sellado a $120^\circ C$ durante 2 días para obtener de forma limpia anilina 241,1. La mezcla se diluyó con 300 mL de acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó, se filtró, se concentró, se sometió a columna flash de sílice con 70% de acetato de etilo en hexano para aislar anilina 241,1 (730 mg, 83%) en forma de sólido blanco.

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 89 con la anilina. MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,4. UV $\lambda=249$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,07 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,87(m, 1H), 7,74 (m, 3H), 7,56 (m, 3H), 4,14 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 1,72-1,11 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 104. 4-(3-(1H-indazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (242.A) y 4-(3-(2H-indazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (242.B)



Esquema:



5

La mezcla de 3-yodoanilina (0,5 mL, 4,2 mmoles), indazol (1,5 g, 12,6 mmoles), K_3PO_4 (2,67 g, 12,6 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles), DMEDA (0,27 mL, 2,5 mmoles) en 6 mL de dioxano y 6 mL de DMSO se agitó en un recipiente sellado a $120^\circ C$ durante 17 h para obtener de forma limpia anilina 242.1 (menos polar) y anilina 242.2 en la relación de 6,9:1 (determinada por HPLC). La mezcla se diluyó con 300 mL de acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó, se filtró, se concentró, se sometió a columna flash de sílice para aislar las dos anilinas.

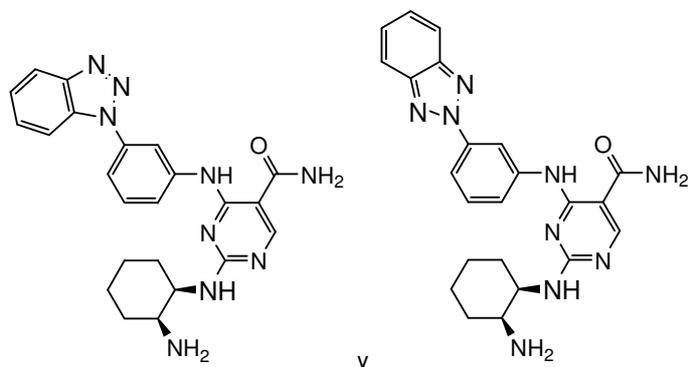
10

Los dos compuestos del título se prepararon usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86 con las correspondientes anilinas. Con la anilina 242.1, se preparó el compuesto 242.A: MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,4. UV $\lambda=247, 301$ nm. Con la anilina 242.2, se preparó el compuesto 242.B: MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,4. UV $\lambda=240, 295$ nm. El compuesto 104A: RMN (CD_3OD): δ 8,57 (m, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,87(m, 1H), 7,83 (m, 3H), 7,59 (m, 2H), 7,51 (m, 1H), 7,33 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 1,80-1,22 (m, 8H) ppm. El compuesto 104B: RMN (CD_3OD): δ 8,84 (s, 1H), 8,78 (m, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,78-7,76 (m, 2H), 7,68 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,57 (m, 1H), 7,42-7,34 (m, 2H), 7,13 (m, 1H), 4,46 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 1,85-1,19 (m, 8H) ppm.

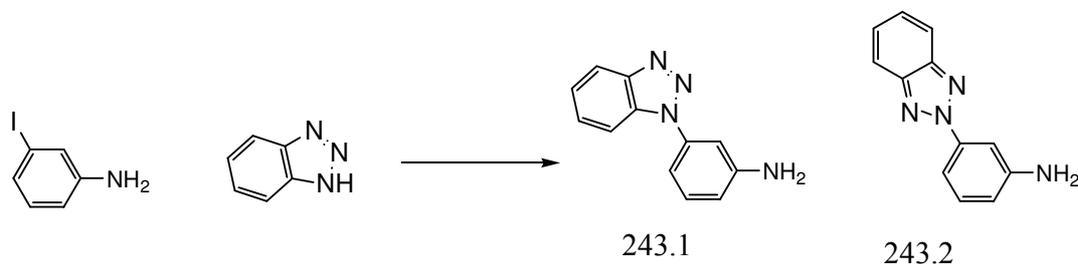
15

Ejemplo 105. 4-(3-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (243.A) y 4-(3-(2H-benzo[d][1,2,3]triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (243.B)

20



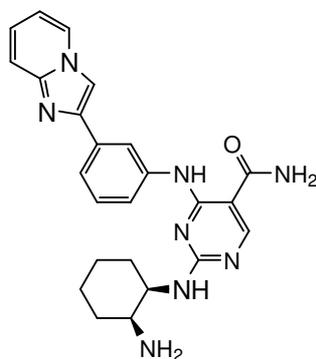
Esquema:



5 La mezcla de 3-yodoanilina (0,5 mL, 4,2 mmoles), indazol (1,5 g, 12,6 mmoles), K_3PO_4 (2,67 g, 12,6 mmoles), CuI (400 mg, 2,1 mmoles), DMEDA (0,27 mL, 2,5 mmoles) en 6 mL de dioxano y 6 mL de DMSO se agitó en un recipiente sellado a $120^\circ C$ durante 17 h para obtener de forma limpia anilina 243.1 y anilina 243.2 (menos polar) en la relación de 7,5:1 (determinada por HPLC). La mezcla se diluyó con 300 mL de acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó, se filtró, se concentró, se sometió a columna flash de sílice para aislar las dos anilinas.

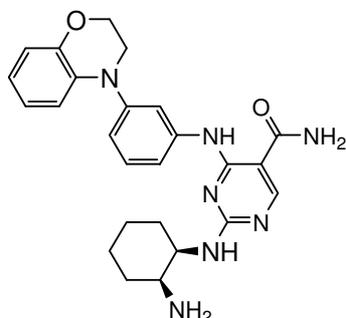
10 Los dos compuestos del título se prepararon usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86 con las correspondientes anilinas. Con la anilina 243.1, se preparó el compuesto 2432.A: MS experimental para $C_{23}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 444,4. UV $\lambda=246, 291$ nm. Con la anilina 243.2, se preparó el compuesto 243.B: MS experimental para $C_{23}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 444,4. UV $\lambda=234, 303$ nm. El compuesto 105A: RMN (CD_3OD): δ 8,78 (m, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,12 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,68 (m, 3H), 7,54 (m, 1H), 7,47 (m, 1H), 4,57 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 1,90-1,44 (m, 8H) ppm. El compuesto 105B: RMN (CD_3OD): δ 9,07 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,16 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,92 (m, 2H),
15 7,59 (m, 1H), 7,49 (m, 2H), 7,42 (m, 1H), 4,61 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 1,93-1,59 (m, 8H) ppm.

Ejemplo 106. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

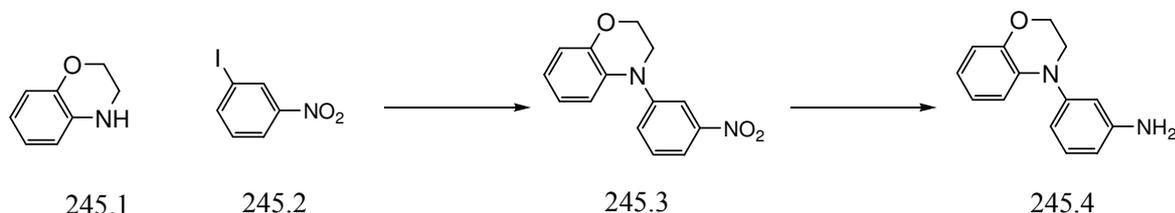


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 86 con la biaril anilina (asequible en comercios). MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,4. UV $\lambda=240, 292$ nm.

Ejemplo de Referencia 107. 4-(3-(2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:

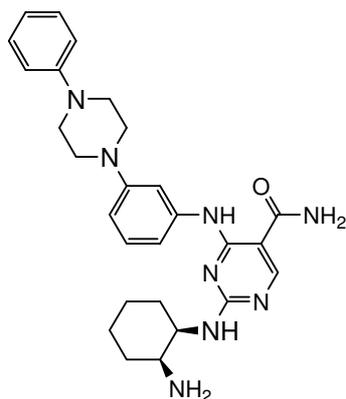


La mezcla de compuesto 245.1 asequible en comercios (600 mg, 4,44 mmoles), 3-yodo-1-nitrobenceno (245,2, 1,11 g, 4,44 mmoles), Pd(dba)₂ (128 mg, 0,22 mmoles), Ph₅FcP(tBu)₂ (313 mg, 0,44 mmoles) y NaOtBu (640 mg, 0,66 mmoles) en 8 mL de tolueno se agitó a 50°C bajo argón durante (21 h). El compuesto 245.2 se formó de forma limpia. La mezcla se diluyó con 300 mL de acetato de etilo, se lavó con salmuera x3, se secó, se filtró a través de un tapón de sílice delgado. El filtrado se sometió a tratamiento de 200 mg de Pd/C al 10% a 50 psi H₂ de agitador Parr durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite y el celite se lavó bien con metanol. El filtrado se concentró al vacío para obtener la anilina cruda 245,4 (870 mg, 87% para 2 etapas).

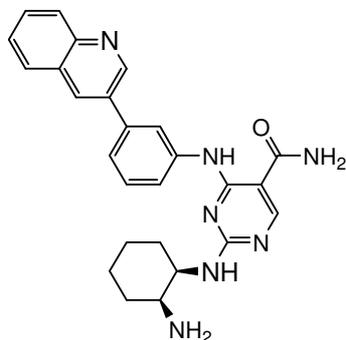
10

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 12 con la anilina preparada con anterioridad. MS experimental para C₂₅H₂₉N₇O₂ como (M+H)⁺ 460,4. UV λ=243. 290 nm.

15 Ejemplo de Referencia 108. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-fenilpiperazin-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

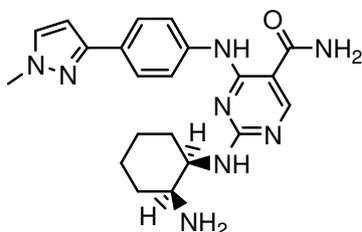


Esquema:



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 109. MS experimental para $C_{26}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 454,4. UV $\lambda=249$ nm.

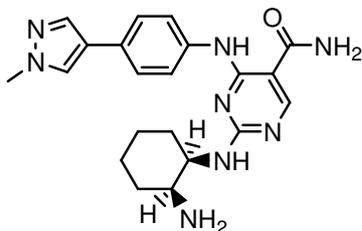
Ejemplo 112. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 83 con 3-yodo-1-metilpirazol para reemplazar 2-bromo-5-metil-1,3,4-tiadiazol **153.1**. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,3. UV $\lambda=240, 311$ nm.

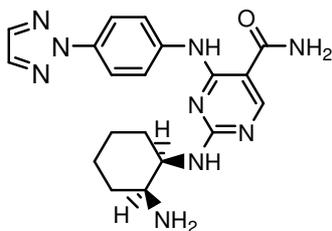
Ejemplo 113. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 83 con 4-yodo-1-metilpirazol para reemplazar 2-bromo-5-metil-1,3,4-tiadiazol **153.1**. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,3. UV $\lambda=239, 314$ nm.

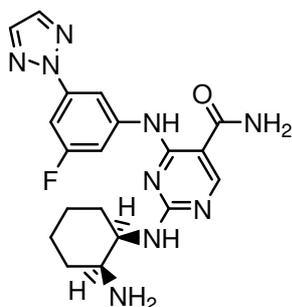
Ejemplo 114. 4-(4-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

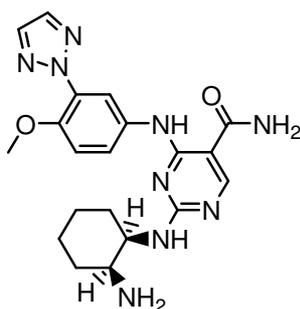
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 87 con 4-fluoro-1-nitrobenceno para reemplazar 3-fluoro-1-nitrobenceno. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,3. UV $\lambda=239, 310$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,54 (s, 1H), 8,12 (m, 2H), 7,93 (s, 2H), 7,81 (m, 2H), 4,40 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 1,94-1,58 (m, 8H) ppm.

5 Ejemplo 115. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando 3-fluoro-5-yodoanilina usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 92. MS experimental para $C_{19}H_{22}FN_9O$ como $(M+H)^+$ 412,3. UV $\lambda=250$ nm.

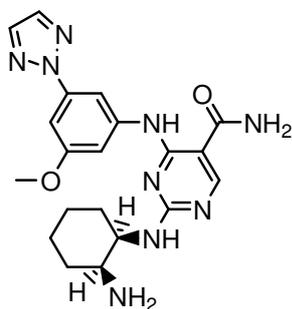
Ejemplo 116. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metoxi-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto anterior se preparó usando 3-yodo-4-metoxianilina usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 92. La 3-Yodo-4-metoxianilina se preparó a partir de 3-yodo-4-metoxi-1-nitrobenceno comercial por hidrogenación con 5% de Pt sulfurado sobre carbón en EtOAc. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 424,3. UV $\lambda=244, 295$ nm.

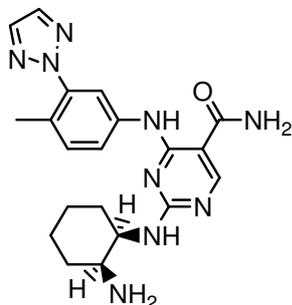
Ejemplo 117. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metoxi-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

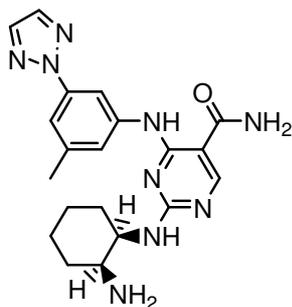
El compuesto anterior se preparó usando 3-bromo-5-metoxianilina usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 92. La 3-Bromo-5-metoxianilina se preparó a partir de 3-bromo-5-metoxi-1-nitrobenceno comercial por hidrogenación con 5% de Pt sulfurado sobre carbón en EtOAc. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 424,3. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo 118. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



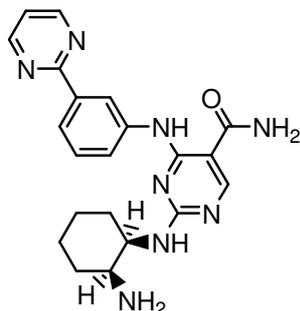
5 El compuesto anterior se preparó usando 4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)anilina usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 87. La 4-Metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)anilina se preparó a partir de 3-fluoro-4-metil-1-nitrobenzoceno comercial y 1,2,3-triazol seguido por hidrogenación con 10% de Pd sobre carbón en EtOAc, tal como se muestra en el Ejemplo 106. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,3. UV $\lambda=243, 281$ nm. δ 1,5-1,9 (m, 8H), 2,36 (s, 3H), 3,60-3,70 (m, 1H), 4,40-4,50 (m, 1H), 7,35-7,43 (m, 2H), 8,00 (s, 2H), 8,28-8,33 (m, 1H), 8,53 (s, 1H)

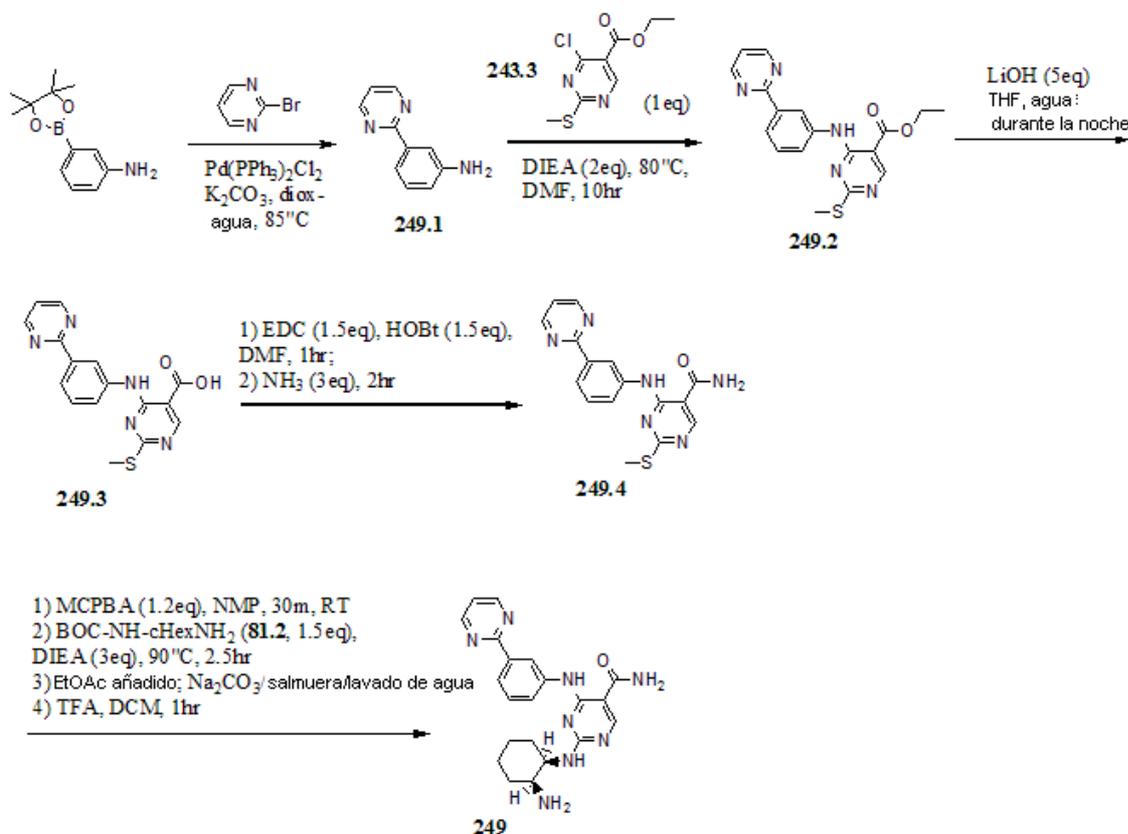
Ejemplo 119. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 El compuesto anterior se preparó usando 3-bromo-5-metil-anilina comercial usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 92. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,3. UV $\lambda=248$ nm. δ 1,5-1,9 (m, 8H), 2,45 (s, 3H), 3,65-3,75 (m, 1H), 4,6-4,7 (s, 1H), 7,12-7,18 (m, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,98 (s, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,72-8,78 (m, 1H)

Ejemplo 120. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida





Etapa 1: La mezcla de 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (670 mg, 3,06 mmoles), 2-bromopirimidina (486 mg, 3,06 mmoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (430 mg, 0,61 mmoles), K₂CO₃ (1,27 g, 9,18 mmoles) en 20 mL de dioxano y 10 mL de agua se desgasificó usando corriente de argón durante 5 minutos y se agitó a 85°C bajo argón durante 2 horas.

5 Se diluyó con 300 mL de EtOAc y se lavó con agua y salmuera x2. La fase orgánica luego se secó, se concentró al vacío y se sometió a columna flash para dar el compuesto **249.1** (sólido blanco, 440 mg, 84% de rendimiento, fuera de columna con 60% de EtOAc en hexano). MS experimental para C₁₀H₉N₃ como (M+H)⁺ 172,1.

Etapa 2: A la mezcla de anilina **249.1** (440 mg, 2,57 mmoles) y 4-cloro-2-metil-5-pirimidincarboxilato de etilo (**243.3**, CAS 5909-24-0, 600 mg, 2,57 mmoles) en 20 mL de DMF se añadió DIEA (0,90 mL, 5,14 mmoles). La mezcla se agitó a 80°C durante 10 horas. A ello se añadió 350 mL de EtOAc, se lavó con salmuera x2, se secó, se filtró y se concentró al vacío para obtener el compuesto **249.2** con rendimiento cuantitativo. MS experimental para C₁₈H₁₇N₅O₂S como (M+H)⁺ 368,1.

10

Etapa 3: El compuesto preparado con anterioridad (2,57 mmoles) se disolvió en 50 mL de THF y 5 mL de agua. A ello se añadió hidrato de LiOH (540 mg, 12,9 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche. Se concentró al vacío para eliminar el THF. Al residuo se añadió HCl 1 N hasta que el pH alcanzó 2. El producto sólido se aisló por filtración. Se lavó bien con agua fría y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **249.3** con rendimiento cuantitativo en forma de un sólido tostado. MS experimental para C₁₆H₁₃N₅O₂S como (M+H)⁺ 340,1.

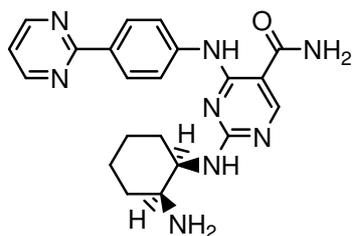
15

Etapa 4: El compuesto antes preparado **249.3** (2,57 mmoles) se agitó en 20 mL de DMF. A ello se añadieron EDC.HCl (740 mg, 3,86 mmoles) e hidrato de HOBt (590 mg, 3,86 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 h y HPLC indicó que todo el material de partida **249.3** se había consumido. A esta mezcla se añadió luego amoniaco (solución 0,5 N en dioxano, 15 mL, 7,5 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas y se concentró al vacío para eliminar dioxano. El agua se añadió al residuo y el sólido se trituró. Este sólido se aisló por filtración, se lavó con agua fría bien y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **249.4** en forma de un sólido tostado. MS experimental para C₁₆H₁₄N₆OS como (M+H)⁺ 339,1.

20

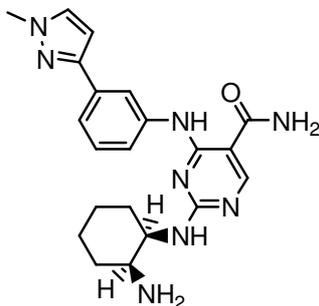
Etapa 5: El compuesto antes preparado **249.4** (150 mg, 0,44 mmoles) se disolvió en 6 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 140 mg, 0,53 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos para obtener una mezcla del correspondiente sulfóxido y sulfona. A ello se añadieron luego DIEA (230 μ L, 1,32 mmoles) y luego (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (**81.2**, 142 mg, 0,66 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas en baño a 90°C. Luego se diluyó con 150 mL de EtOAc, se lavó con Na₂CO₃ saturado y salmuera x2, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo luego se expuso a mezcla 1:1 de TFA y DCM durante 1 h. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título **249**. MS experimental para C₂₁H₂₄N₈O como (M+H)⁺ 405,3. UV λ =249 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,63 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,01 (m, 1H), 7,27 (m, 2H), 7,12 (dd, J=4,8, 4,8 Hz, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,37 (m, 1H), 1,64-1,21 (m, 8H) ppm.

10 Ejemplo 121. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



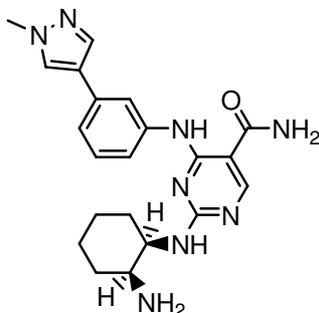
El compuesto anterior se preparó usando 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina comercial usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 120. MS experimental para C₂₁H₂₄N₈O como (M+H)⁺ 405,3. UV λ =231, 314 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,83 (d, J=4,8 Hz, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,45 (m, 2H), 7,81 (m, 2H), 7,35 (dd, J=5,2, 4,8 Hz, 1H), 4,44 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 1,82-1,62(m, 8H) ppm.

15 Ejemplo 122. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-pirazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



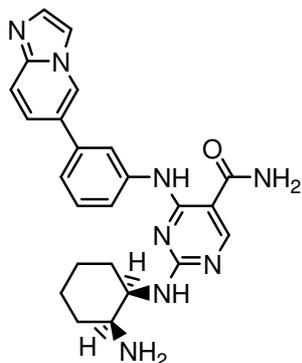
El compuesto anterior se preparó usando 3-yodo-1-metilpirazol comercial usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 120. MS experimental para C₂₁H₂₆N₈O como (M+H)⁺ 407,3. UV λ =249 nm.

20 Ejemplo 123. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



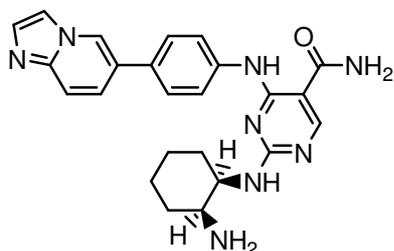
El compuesto anterior se preparó usando 4-yodo-1-metilpirazol comercial usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,3. UV $\lambda=247$ nm.

Ejemplo 124. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-6-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 5 El compuesto anterior se preparó usando 6-bromoimidazo[1,2-a]piridina comercial usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,3. UV $\lambda=247$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,17 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,31 (dd, $J=9,6, 1,6$ Hz, 1H), 8,30 (d, $J=1,6$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,95 (s amplio, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,63 (s amplio, 2H), 4,35 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 1,90-1,48 (m, 8H) ppm.

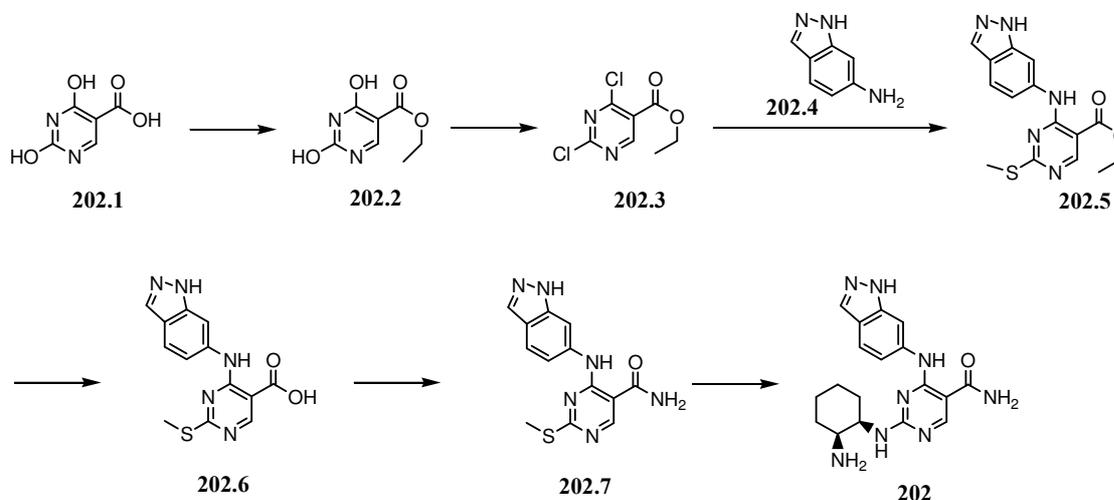
Ejemplo 125. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(imidazo[1,2-a]piridin-6-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto anterior se preparó usando 6-bromoimidazo[1,2-a]piridina comercial y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina usando un procedimiento igual al descrito en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{24}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 443,3. UV $\lambda=245, 303$ nm.

Ejemplo de Referencia 126. 4-(1H-indazol-6-ilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Etapa 1: A una solución agitada de ácido carboxílico **202.1** (85 g, 540 mmoles) en cloruro de tionilo (425 mL) se añadió piridina (8,5 mL, 0,11 mmoles) lentamente. La reacción se agitó a 75°C durante lo cual se concentró y se secó al vacío en un polvo amarillo claro. Este sólido amarillo lentamente se diluyó con 750 mL de etanol y se calentó a reflujo. Al día siguiente, se determinó que la reacción estaba completa por medio de HPLC y luego se enfrió en un baño de hielo y el sólido se filtró y se lavó con éter dietílico para dar como resultado éster etílico **202.2** en forma de un polvo blanquecino (91 g, 87% para dos etapas). MS experimental para C₇H₈N₂O₄ como (M+H)⁺ 185,0.

10 Etapa 2: El éster **202.2** (22 g, 120 mmoles) se disolvió en oxiclorigenato de fósforo (60 mL, 600 mmoles) y la mezcla se trató con N,N-dietilalanina (27 mL, 167 mmoles) y la mezcla se calentó hasta 105°C hasta que la reacción se determinó completa por HPLC. Luego se enfrió hasta temperatura ambiente y lentamente se añadió a 1 L de hielo picado dando como resultado la formación de un precipitado beige que se recogió por filtración y se secó al vacío para dar como resultado dicloruro **202.3** en forma de un polvo amarillo claro (22,5 g, 85%). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 9,13 (s, 1H), 4,37 (q, 2H), 1,32 (t, 3H).

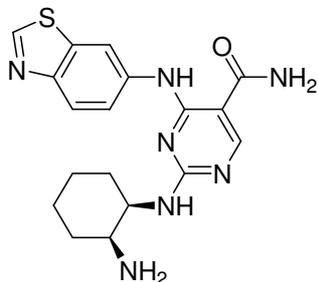
15 Etapa 3: La dicloropirimidina **202.3** (1,04 g, 4,7 mmoles) se disolvió en NMP (30 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadieron 6-aminoindazol **202.4** (690 mg, 5,2 mmoles) y luego gota a gota etil-diisopropilamina (DIEA, 1,64 mL, 9,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 40 minutos y a ello se añadió tiometóxido de sodio (660 mg, 9,4 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces y se concentró al vacío para dar el compuesto crudo **202.5** en forma de un sólido marrón claro en rendimiento cuantitativo. MS experimental para C₁₅H₁₅N₅O₂S como (M+H)⁺ 330,1.

20 Etapa 4: El éster etílico **202.5** (4,7 mmoles) se disolvió en 60 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (236 mg, 5,6 mmoles) y 20 mL de agua. La mezcla se agitó durante la noche y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 2. La mezcla se concentró al vacío para eliminar el THF. El sólido blanco se trituró y se aisló usando un embudo de Büchner. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **202.6** (1,14 g, 81%) en forma de un sólido blanco. MS experimental para C₁₃H₁₁N₅O₂S como (M+H)⁺ 302,1.

25 Etapa 5: El ácido carboxílico **202.6** (1,14 g, 3,8 mmoles) se disolvió en 30 mL de DMF. A ello se añadieron hidrócloruro de EDC (1,09 g, 5,7 mmoles) e hidrato de HOBt (770 mg, 5,7 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 22 mL, 11,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera cuatro veces. La fase orgánica luego se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para obtener el compuesto **202.7** en forma de un sólido amarillo claro (820 mg, 72%). MS experimental para C₁₃H₁₂N₆OS como (M+H)⁺ 301,1.

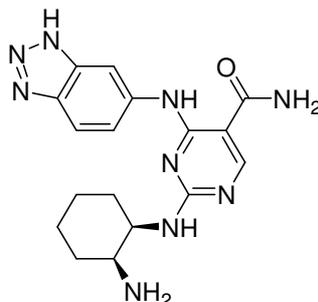
30 Etapa 6: El compuesto **202.7** (36 mg, 0,12 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 48 mg, 0,18 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A ello se añadió luego cis-1,2-diaminociclohexano (71 µL, 0,60 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en baño a 90°C. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **202**. MS experimental para C₁₈H₂₂N₈O como (M+H)⁺ 367,2. UV λ=245, 300 nm.

Ejemplo de Referencia 127. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



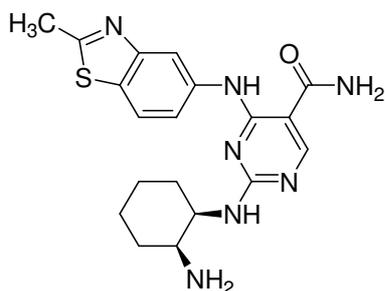
5 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 6-aminobenzotiazol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 384,2. UV $\lambda=241, 298$ nm.

Ejemplo de Referencia 128. 4-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-6-ilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida 3



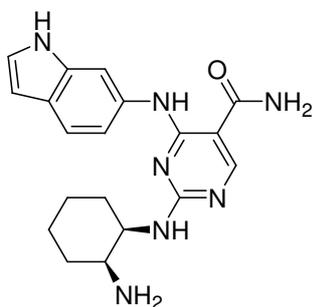
10 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 5/6-aminobenzotriazol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 368,2. UV $\lambda=246, 295$ nm.

Ejemplo de Referencia 129. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metilbenzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



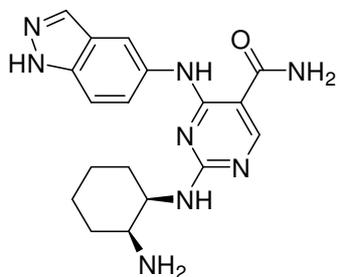
15 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 5-amino-2-metilbenzotiazol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 398,2. UV $\lambda=246, 295$ nm.

Ejemplo de Referencia 130. 4-(1H-indol-6-ilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida 6



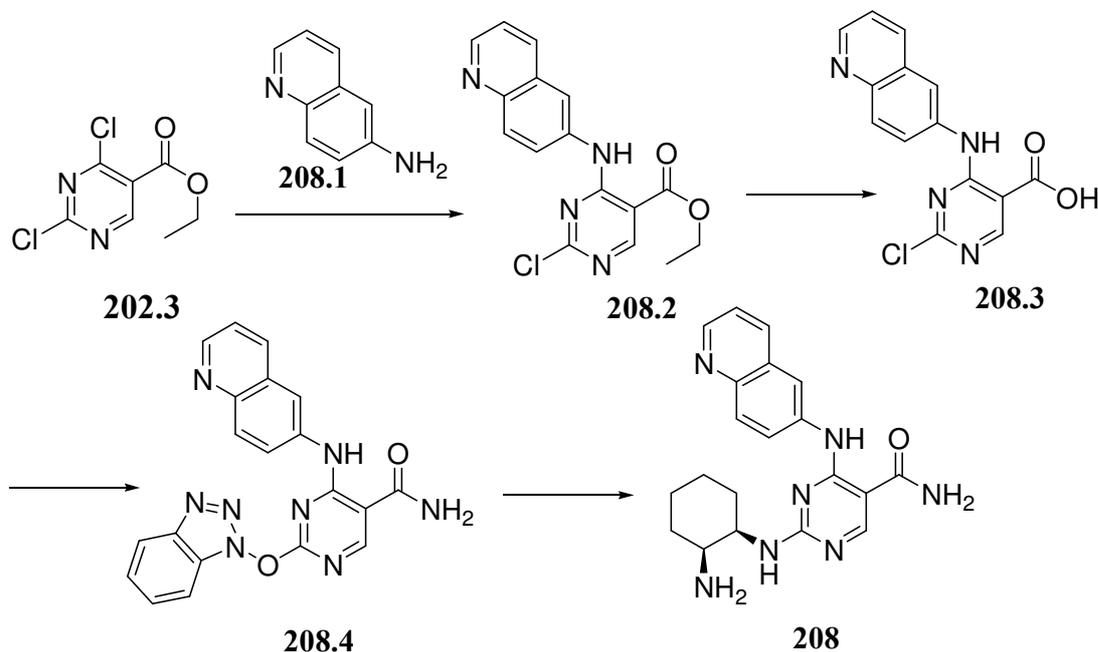
El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 6-aminoindol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 366,2. UV $\lambda=239, 309$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 131. 4-(1H-indazol-5-ilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 5-aminoindazol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 367,2. UV $\lambda=245, 294$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 132. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



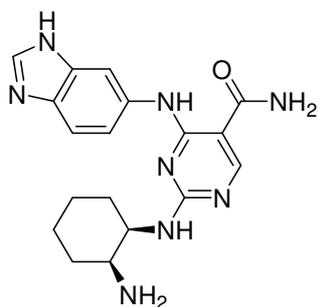
5 Etapa 1: La dicloropirimidina **202.3** (500 mg, 2,3 mmoles) se disolvió en NMP (20 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadieron 6-aminoquinolina **208.1** (390 mg, 2,7 mmoles) y luego gota a gota etildiisopropilamina (DIEA, 0,72 mL, 4,1 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces y se concentró al vacío para dar el compuesto crudo **208.2** en forma de un sólido marrón claro en rendimiento cuantitativo. MS experimental para $C_{16}H_{13}CN_4O_2$ como $(M+H)^+$ 329,1.

10 Etapa 2: El éster etílico **208.2** (2,3 mmoles) se disolvió en 30 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (193 mg, 4,6 mmoles) y 6 mL de agua. La mezcla se agitó durante 7 horas y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 5. La mezcla se concentró al vacío para eliminar el THF y se extrajo con acetato de etilo 5 veces. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron y se concentraron al vacío para dar ácido crudo **208.3**. MS experimental para $C_{14}H_9ClN_4O_2$ como $(M+H)^+$ 301,1.

15 Etapa 3: El ácido carboxílico **208.3** (220 mg, 0,73 mmoles) se disolvió en 18 mL de NMP. A ello se añadieron hidrocloreuro de EDC (210 mg, 1,1 mmoles) e hidrato de HOBt (150 mg, 1,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 7,3 mL, 3,65 mmoles). La mezcla se agitó durante 2,5 horas. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera tres veces. La fase orgánica luego se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para obtener el compuesto **208.4** en forma de un sólido (180 mg, 62%). MS experimental para $C_{20}H_{14}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 399,1.

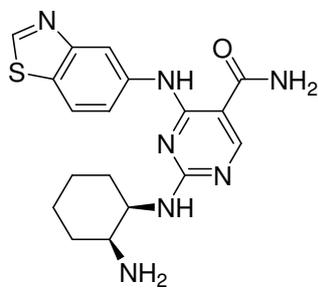
20 Etapa 6: El compuesto **208.4** (72 mg, 0,18 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió cis-1,2-diaminociclohexano (100 μ L, 0,90 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en baño a $90^\circ C$. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **208**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 378,2. UV $\lambda=241, 283$ nm.

Ejemplo de Referencia 133. 4-(1H-benzo[d]imidazol-6-ilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



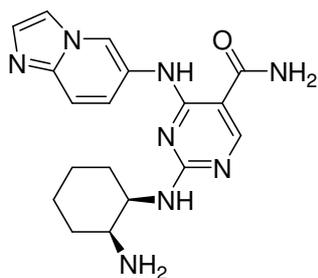
El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 132 con 6-amino-1H-benzo[d]imidazol-1-carboxilato de terc-butilo para reemplazar la 6-aminoquinolina **208.1**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 367,2. UV $\lambda=243, 294$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 134. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



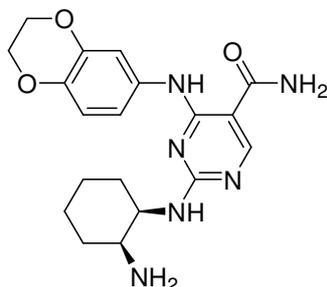
El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 5-aminobenzotiazol para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 384,2. UV $\lambda=246, 292$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 135. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(imidazo[1,2-a]piridin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



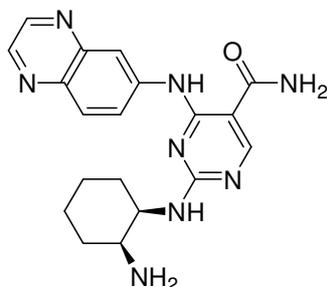
El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con imidazo[1,2-a]piridin-6-amina para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 367,2. UV $\lambda=250$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 136. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



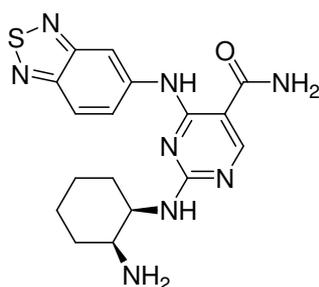
5 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 132 con 2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-amina para reemplazar 6-aminoquinolina **208.1**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 385.2. UV $\lambda=240, 294$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,45 (s, 1H), 7,31 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 6,91 (dd, $J=8,4, 2,0$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 4,27 (m, 5H), 3,79 (m, 1H), 1,94-1,58 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 137. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinoxalin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



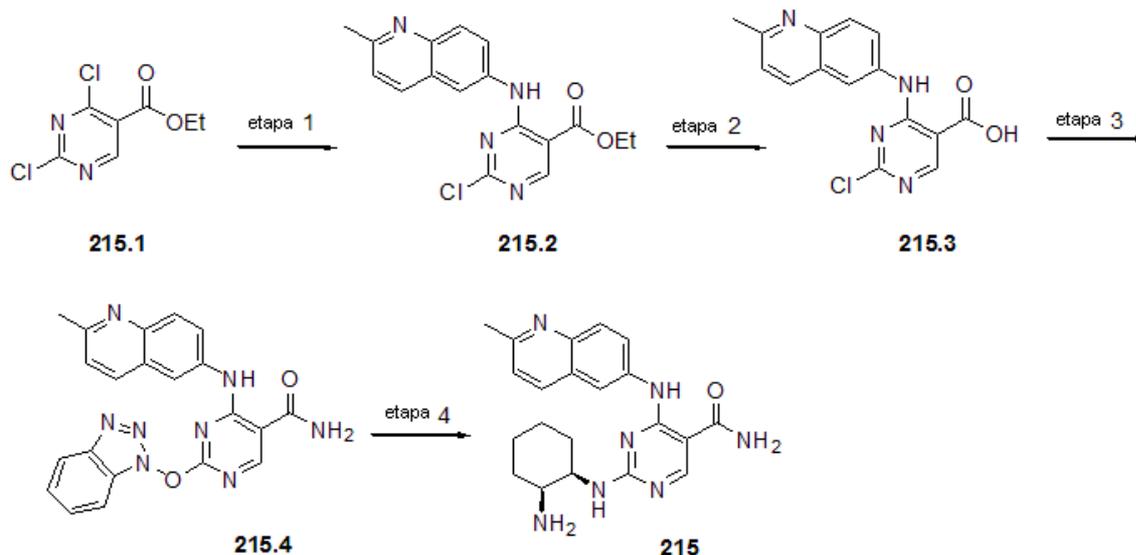
10 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 126 con 6-aminoquinoxalina para reemplazar 6-aminoindazol **202.4**. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 379,2. UV $\lambda=242$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,87 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,74 (m, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,10 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 4,54 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 1,99-1,62 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 138. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo[c][1,2,5]tiadiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



15 El compuesto racémico anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 132 con 2,1,3-benzotiadiazol-5-amina para reemplazar 6-aminoquinolina **208.1**. MS experimental para $C_{17}H_{20}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 385.2. UV $\lambda=243$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,73 (m, 1H), 8,60 (s, 1H), 7,96 (m, 1H), 7,63 (dd, $J=9,6, 2,0$ Hz, 1H), 4,48 (m, 1H), 3,87 (m, 1H), 1,98-1,63 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 139. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metilquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



Etapa 1: A una solución de Dicloropirimidina **215.1** (700 mg, 3,16 mmoles) en acetonitrilo (8 mL) se añadió una suspensión de 6-amino-2-metilquinolina (500 mg, 3,16 mmoles), diisopropilamina (0,61 mL, 3,5 mmoles) en acetonitrilo (10 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **215.2** (964 mg, 89%). MS experimental para C₁₇H₁₅ClN₄O₂ como (M+H)⁺ 343,1.

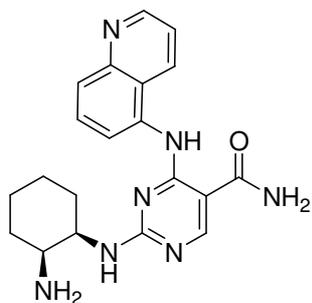
Etapa 2: El éster etílico **215.2** (960 mg, 2,81 mmoles) se diluyó con 1,4-dioxano (7,5 mL) y etanol (2 mL), seguido por hidróxido de litio acuoso (1,0 M, 2,8 mL, 2,8 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente hasta convertir todo el material de partida en el ácido carboxílico. La reacción luego se diluyó con y se acidificó con HCl 1 N (3,0 mL). La suspensión resultante luego se filtró, se lavó con agua y se secó dando 870 mg del ácido carboxílico **215.3** (98%). MS experimental para C₁₅H₁₁ClN₄O₂ como (M+H)⁺ 316,1.

Etapa 3: Al ácido carboxílico **215.3** (870 mg, 2,76 mmoles), EDC (792 mg, 4,14 mmoles), HOBT (560 mg, 4,14 mmoles) en N,N-dimetilformamida (14 mL) se añadió amoníaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 14 mL, 6,9 mmoles) y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua (100 mL) y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **215.4** (1,10 g, 97%). MS experimental para C₂₁H₁₆N₈O₂ como (M+H)⁺ 413,1.

Etapa 4: Una mezcla de Éter de benzotriazolilo **215.4** (75 mg, 0,182 mmoles), cis-1,2-diaminociclohexano (25 mg, 0,218 mmoles), DIPEA (0,1 mL, 0,546 mmoles) en iso-propanol (3 mL) se calentó en microondas (Emry's Optimizer) a 130°C durante 20 min.

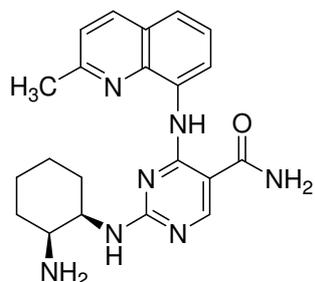
La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y acetonitrilo y se purificó directamente por HPLC preparativa para dar como resultado el producto deseado, **215**, después de liofilización. MS experimental para C₂₁H₂₅N₇O como (M+H)⁺ 392,2.

Ejemplo de Referencia 140. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinolin-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



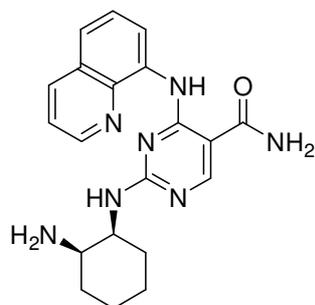
El compuesto anterior se preparó usando 5-Aminoquinolina usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo de Referencia 129. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 378,3.

Ejemplo de Referencia 141. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metilquinolin-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



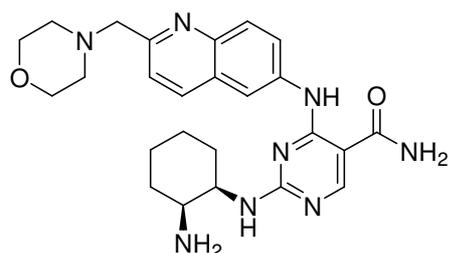
- 5 El compuesto anterior se preparó usando 8-Amino-2-metilquinolina usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo de Referencia 140. MS experimental para $C_{21}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 392,3.

Ejemplo de Referencia 142. 2-((1S,2R)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinolin-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



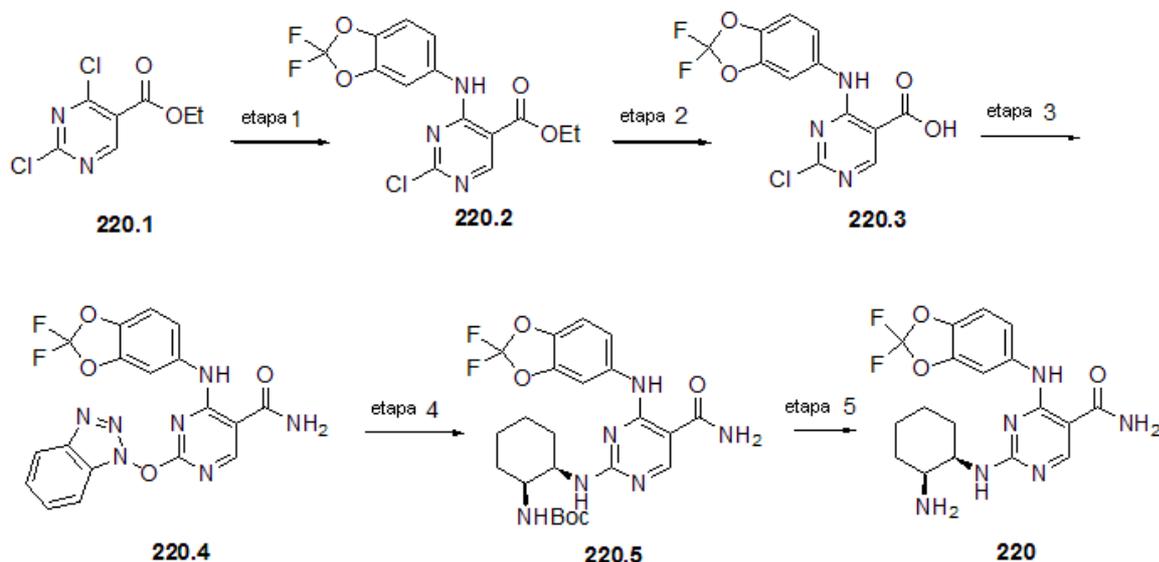
- 10 El compuesto anterior se preparó usando 8-Aminoquinolina usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo de Referencia 139. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 378,3.

Ejemplo de Referencia 143. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-(morfolinometil)quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 15 El compuesto anterior se preparó usando 2-(morfolinometil)quinolin-6-amina (J. Med.Chem 2006, 49, 7095) usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo de Referencia 139. MS experimental para $C_{25}H_{32}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 477,4.

Ejemplo de Referencia 144. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



Etapa 1: A una solución de Dicloropirimidina **220.1** (700 mg, 3,16 mmoles) en acetonitrilo (10 mL) se añadió una suspensión de 2,2-difluoro-5-aminobenzodioxol (549 mg, 3,16 mmoles), diisopropilamina (0,61 mL, 3,5 mmoles) en acetonitrilo (5 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua (50 mL) y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **220.2** (1,03 g, 91%). MS experimental para C₁₄H₁₀ClF₂N₃O₄ como (M+H)⁺ 358,1.

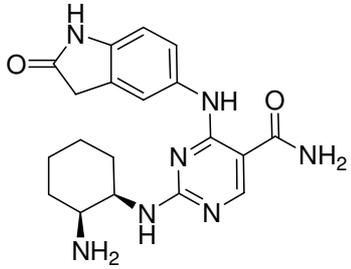
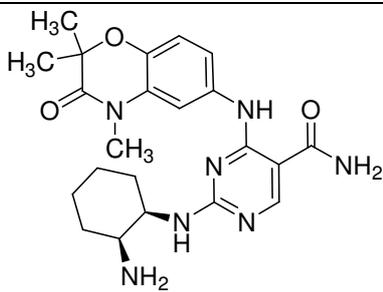
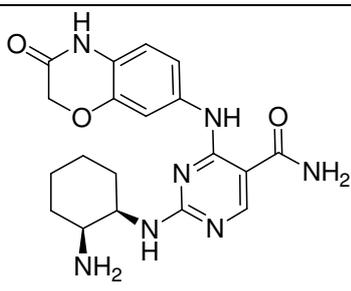
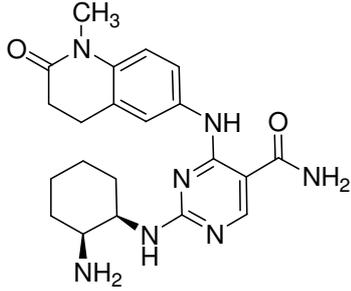
Etapa 2: El éster etílico **220.2** (1,03 g, 2,9 mmoles) se diluyó con 1,4-dioxano (7,5 mL) seguido por hidróxido de litio acuoso (1,0 M, 2,9 mL, 2,9 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente hasta convertir todo el material de partida en el ácido carboxílico. La reacción luego se diluyó con agua (20 mL) y se acidificó con HCl 1 N (3,6 mL). La suspensión resultante luego se filtró, se lavó con agua y se secó dando 950 mg del ácido carboxílico **220.3** (99%). MS experimental para C₁₂H₆ClF₂N₃O₄ como (M+H)⁺ 330,0.

Etapa 3: Al ácido carboxílico **220.3** (950 mg, 2,89 mmoles), EDC (828 mg, 4,33 mmoles), HOBt (663 mg, 4,33 mmoles) en N,N-dimetilformamida (14 mL) se añadió amoníaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 14 mL, 6,9 mmoles) y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua (60 mL) y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **220.4** (1,26 g, 99%). MS experimental para C₁₈H₁₁F₂N₇O₄ como (M+H)⁺ 428,2.

Etapa 4 y Etapa 5: Una mezcla de éter de benzotriazolilo **220.4** (75 mg, 0,176 mmoles), (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (45 mg, 0,211 mmoles), DIPEA (0,1 mL, 0,530 mmoles) en iso-propanol (3 mL) se calentó en microondas (Emry's Optimizer) a 130°C durante 20 min. La mezcla de reacción se concentró y luego se trató con HCl 4,0 M en dioxano (5,0 mL). Después de 1 hora a temperatura ambiente, se concentró la mezcla de reacción y se diluyó con agua y acetonitrilo y se purificó directamente por HPLC preparativa para dar como resultado el producto deseado **220**, después de liofilización. MS experimental para C₁₈H₂₀F₂N₆O₃ como (M+H)⁺ 407,28.

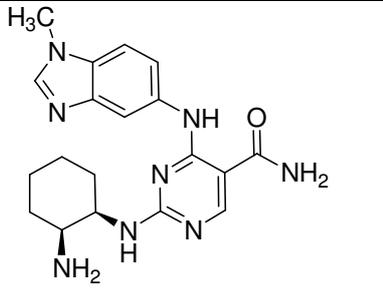
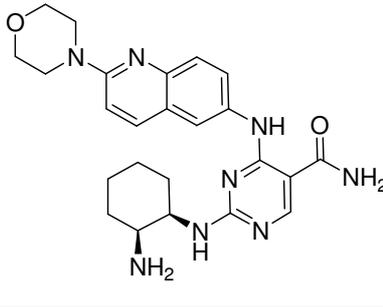
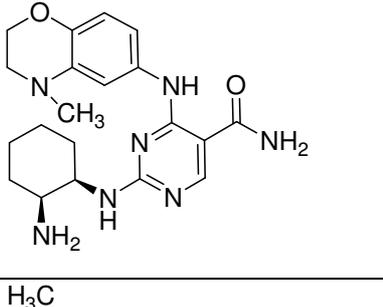
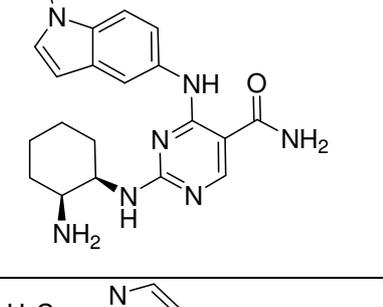
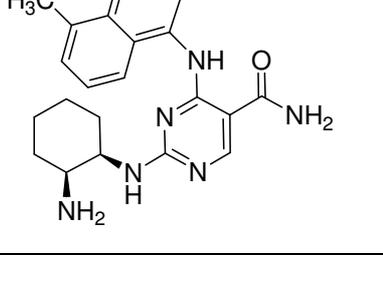
Ejemplo de Referencia 145 Se prepararon los siguientes compuestos usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo de Referencia 143 (los compuestos de referencia están marcados).

Tabla 1.

Ej. N.º	Estructura	PM	MS	Nombre
146*		381,44	382,35	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-oxoindolin-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
147*		439,52	440,38	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2,2,4-trimetil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
148*		397,439	398,31	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-7-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
149*		409,494	410,36	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

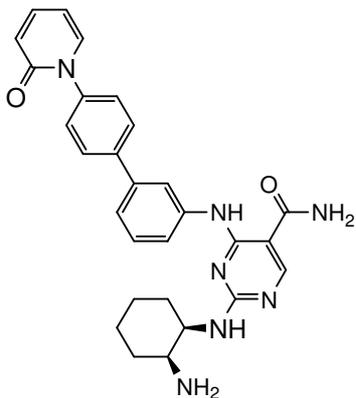
150*		402,462	403,32	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-cianoquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
151*		395,467	396,35	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
152*		393,451	394,14	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
153*		411,466	412,5	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-7-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
154*		397,439	398,5	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

155*		407,478	408,6	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
156*		476,585	477,6	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-(morfolinometil)quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
157*		377,452	378,5	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
158*		380,46	381,1	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-indazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
159*		380,46	381,1	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-indazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

160*		380,46	381,1	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
161*		462,56	463,3	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-morfolinoquinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
162*		397,49	398,2	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
163*		379,47	380,4	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-indol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
164*		391,48	392,2	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(8-metilquinolin-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

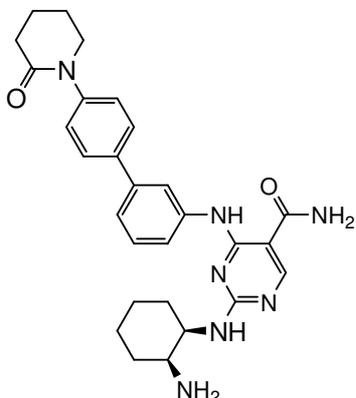
165*		432,53	433,2	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-(ciclopropilamino)quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida
166*		411,47	412,2	2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

Ejemplo de Referencia 167. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4'-(2-oxopiridin-1(2H)-il)bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



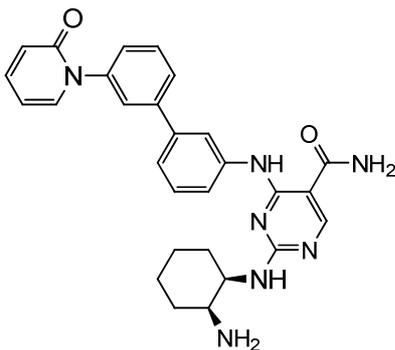
- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{28}H_{29}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 496,5. UV $\lambda=245$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,51 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,79 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,63 (m, 2H), 7,55-7,49 (m, 5H), 6,65 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,54 (t, 2H), 1,84-1,40 (m, 8H) ppm.

- 10 Ejemplo de Referencia 168. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4'-(2-oxopiperidin-1-il)bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



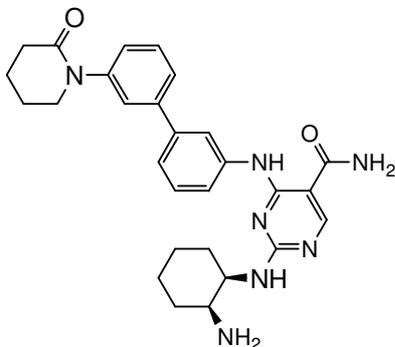
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{28}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 500,5. UV $\lambda=249$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,50 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,68 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,49-7,43 (m, 3H), 7,36 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 4,21 (m, 1H), 3,71 (t, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,54 (t, 2H), 1,98 (m, 4H), 1,83-1,36 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 169. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3'-(2-oxopiridin-1(2H)-il)bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



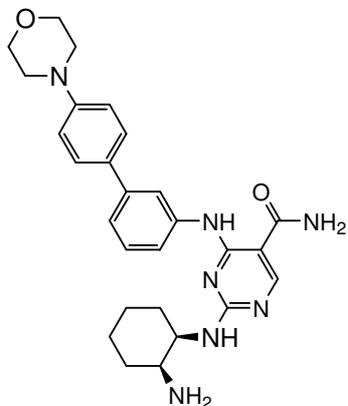
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{28}H_{29}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 496,5. UV $\lambda=244$ nm.

Ejemplo de Referencia 170 2. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3'-(2-oxopiperidin-1-il)bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



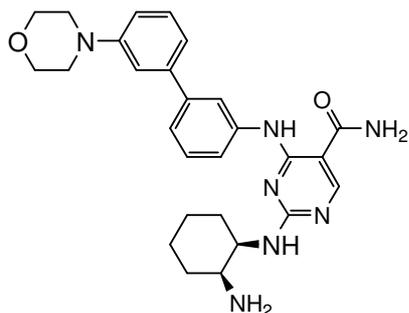
15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{28}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 500,5. UV $\lambda=246$ nm.

Ejemplo de Referencia 171. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4'-morfolinobifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



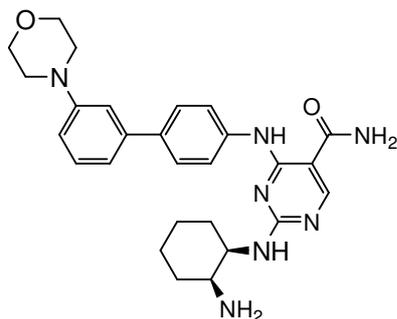
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{27}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 488,4. UV $\lambda=247$ nm.

5 Ejemplo de Referencia 172. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3'-morfolinobifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{27}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 488,4. UV de Referencia =246 nm.

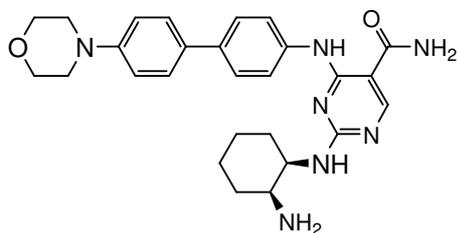
Ejemplo de Referencia 173. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3'-morfolinobifenil-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{27}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 488,4. UV $\lambda=238, 309$ nm.

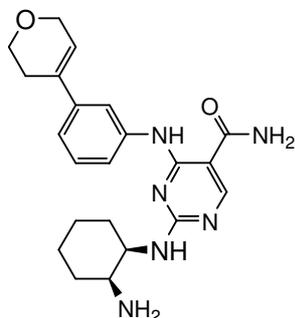
Ejemplo de Referencia 174. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4'-morfolinobifenil-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



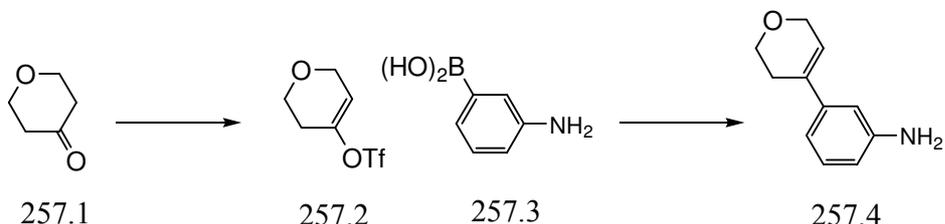
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{27}H_{33}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 488,4. UV $\lambda=241, 314$ nm.

5

Ejemplo de Referencia 175. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



10

La diisopropilamina (1,63 mL, 11,68 mmoles) se disolvió en 10 mL de THF seco y se agitó en baño de hielo. A ello se añadió n-butil-litio (2,5 M en hexano, 4,67 mL, 11,68 mmoles) gota a gota. La mezcla se agitó durante 20 min y se dejó en un baño a $-78^{\circ}C$. A ello se añadió la solución de cetona 257,1 (0,92 mL, 10 mmoles) en 10 mL de THF gota a gota. La mezcla se agitó durante 30 min. A ello se añadió la solución de N-fenilbis(trifluorometansulfonimida) ($PhNTf_2$, 4,17 g, 11,68 mmoles) en 10 mL de THF. La mezcla se movió al baño de hielo y se agitó durante la noche. Se concentró al vacío y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto 257,2 usando 20% acetato de etilo en hexano.

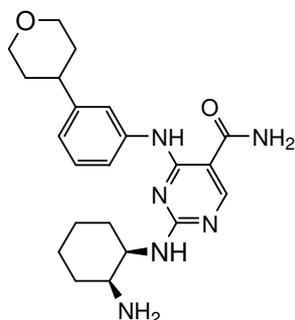
15

El compuesto 257.2 (920 mg, 4,0 mmoles) se mezcló con ácido bórico 257.3 (550 mg, 4,0 mmoles), $Pd(Ph_3P)_2Cl_2$ (562 mg, 0,8 mmoles), K_2CO_3 (1,1 g, 8,0 mmoles) en 30 mL de dioxano y 15 mL de agua. La mezcla se desgasificó usando corriente de argón durante 3 min y se agitó bajo argón a $85^{\circ}C$ durante 3,5 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x2, se secó, se concentró y se sometió a columna flash para aislar anilina 257.4 (300 mg) en forma de sólido blanco.

20

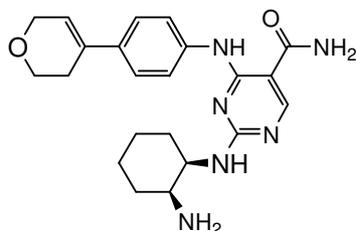
El compuesto del título se preparó con anilina 257.4 usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120. MS experimental para $C_{22}H_{28}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 409,4. UV $\lambda=246$ nm.

Ejemplo de Referencia 176. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(tetrahidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó a partir del Ejemplo de Referencia 175 usando hidrogenación con catálisis estándar tratando la solución del Ejemplo de Referencia 175 en metanol con Pd/C al 10% bajo balón de H₂ durante la noche. MS experimental para C₂₂H₃₀N₆O₂ como (M+H)⁺ 411,4. UV λ=241, 290 nm.

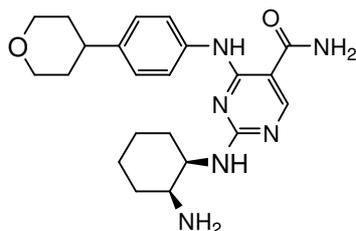
- 5 Ejemplo de Referencia 177. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(3,4-dihidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la química similar mostrada para el Ejemplo de Referencia 175. MS experimental para C₂₂H₂₈N₆O₂ como (M+H)⁺ 409,4. UV λ=239, 309 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,51 (s, 1H), 7,60 (d, J=7,2 Hz, 2H), 7,50 (d, J=8,0 Hz, 2H), 6,23 (s, 1H), 4,36-4,30 (m, 3H), 3,94 (t, 2H), 3,72 (m, 1H), 2,53 (m, 2H), 1,90-1,58 (m, 8H) ppm.

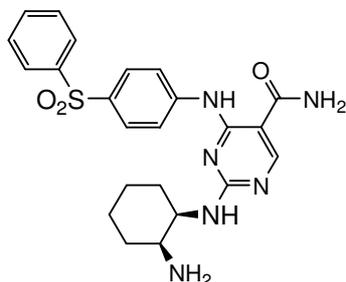
10

Ejemplo de Referencia 178. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



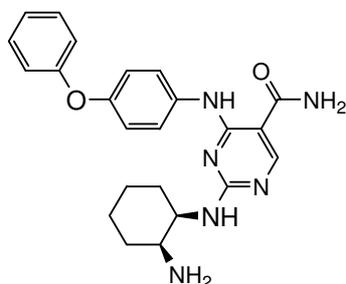
- 15 El compuesto del título se preparó a partir del Ejemplo de Referencia 175 usando hidrogenación con catálisis estándar tratando la solución de Ejemplo de Referencia 175 en metanol con Pd/C al 10% bajo balón de H₂ durante la noche. MS experimental para C₂₂H₃₀N₆O₂ como (M+H)⁺ 411,4. UV λ=243, 296 nm.

Ejemplo de Referencia 179. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(fenilsulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



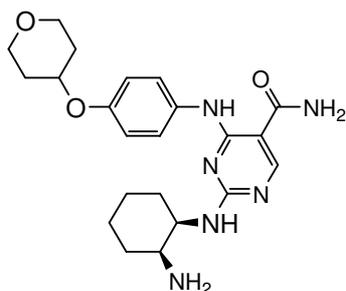
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para $C_{23}H_{26}N_6O_3S$ como $(M+H)^+$ 467,3. UV $\lambda=232, 306$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 180. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-fenoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



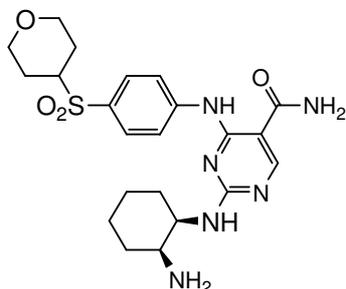
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para $C_{22}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 419,3. UV $\lambda=238, 290$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 181a. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

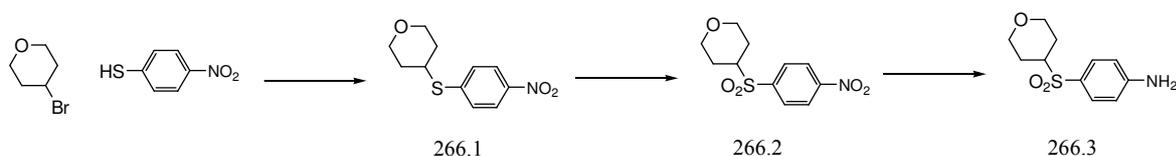


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para $C_{22}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 427,3. UV $\lambda=241, 291$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 181b. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(tetrahydro-2H-piran-4-ilsulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:

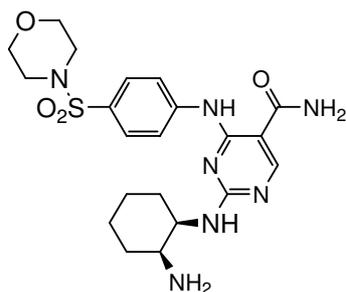


5 El 4-Nitrotiofenol (400 mg, 2,55 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron carbonato de cesio (1,67 g, 5,1 mmoles) y 4-bromotetrahidropirano (0,84 g, 5,1 mmoles). La mezcla se agitó a 50°C durante 90 min. Se diluyó en acetato de etilo y se lavó con salmuera x3. La fase orgánica se secó, se concentró al vacío para obtener el compuesto crudo 266.1. Se disolvió en 100 mL de DCM. A ello se añadió MCPBA (1,98 g, 7,5 mmoles) en pequeñas porciones. La mezcla se agitó durante 30 min, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de carbonato de sodio y salmuera. La fase orgánica se secó, se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto 266.2 (320 mg, 47% para 2 etapas) usando 1:1 acetato de etilo y hexano.

10 El compuesto 266.2 (320 mg, 1,18 mmoles) se disolvió en 150 mL de acetato de etilo. A ello se añadió 200 mg de Pd/C al 10%. La mezcla se agitó bajo balón de H₂ durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite. El celite se lavó bien. El filtrado se concentró al vacío para obtener la anilina 266.3 (260 mg, 91%) en forma de sólido blanco.

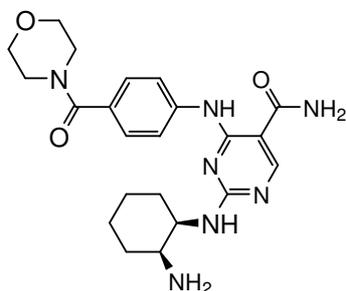
15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con anilina 266.3. MS experimental para C₂₂H₃₀N₆O₄S como (M+H)⁺ 475,3. UV λ=250, 301 nm.

Ejemplo de Referencia 182. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(morfolinosulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



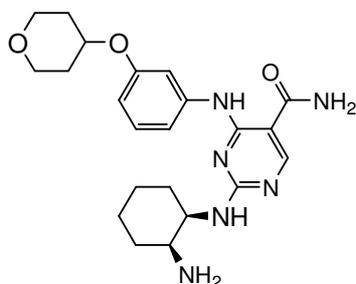
20 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para C₂₁H₂₉N₇O₄S como (M+H)⁺ 476,4. UV λ=249, 300 nm.

Ejemplo de Referencia 183. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(morfolin-4-carbonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

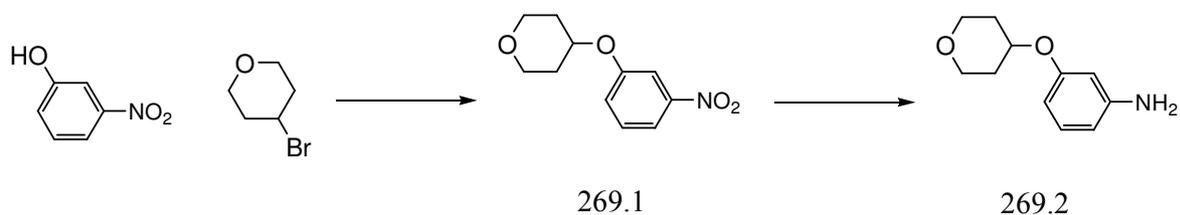


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para $C_{22}H_{29}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 400,4. UV $\lambda=244, 297$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 184. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



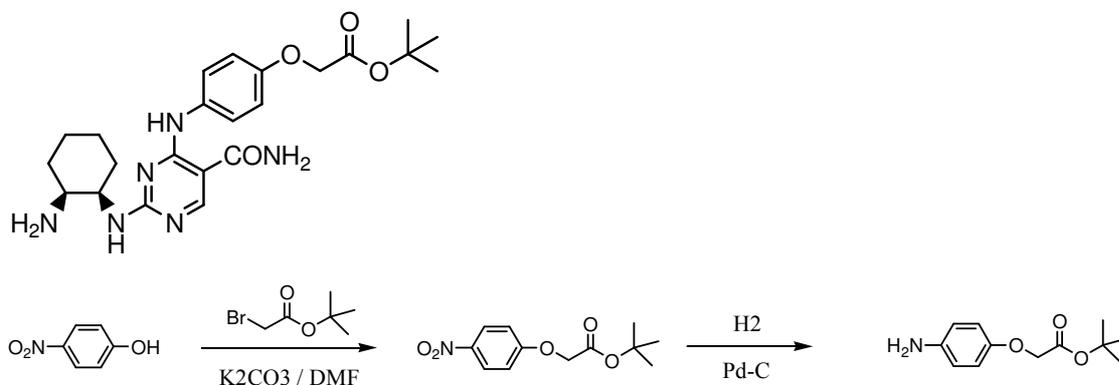
Esquema:



- 10 El 3-Nitrofenol (500 mg, 3,6 mmoles) se disolvió en 15 mL de DMF. A ello se añadieron carbonato de cesio (2,35 g, 7,2 mmoles) y luego 4-bromotetrahidropirano (2,4 g, 14,4 mmoles). La mezcla se agitó a $70^{\circ}C$ durante la noche. La reacción se completó sólo en un 30%. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua, carbonato de sodio saturado y salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró. Al filtrado que contenía compuesto crudo 269.1 se añadió Pd/C al 10% 1,0 g. La mezcla se agitó bajo balón de H_2 durante la noche. La mezcla se filtró, se concentró y se purificó usando columna flash de sílice para obtener la anilina 269.2 (102 mg, 15% de rendimiento global) en forma de sólido.

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con anilina 269.2. MS experimental para $C_{22}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 427,4. UV $\lambda=244, 287$ nm.

Ejemplo de Referencia 185 2-(4-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acetato de ter-butilo (racemato)

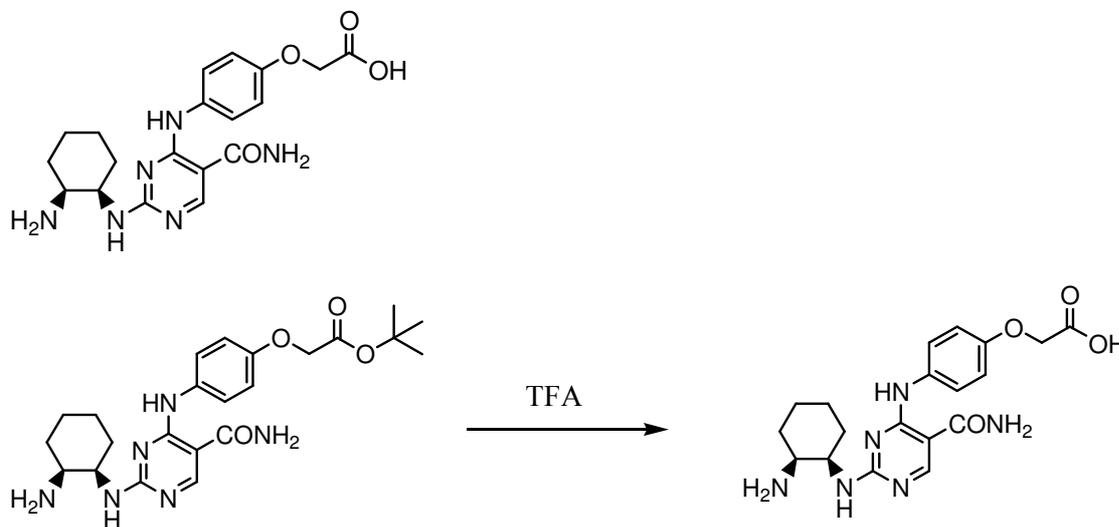


5 A una solución de 4-nitrofenol (3,00 g, 21,6 mmoles) y K_2CO_3 (6,00 g, 43,4 mmoles) en DMF (50 mL), se añadió bromoacetato de t-butilo (2,90 mL, 19,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con agua, luego con NaOH 1 N ac. y salmuera. Se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 2-(4-nitrofenoxi)acetato de terc-butilo en forma de un sólido.

A la solución del sólido en MeOH (40 mL), se añadió Pd-C (10%, 410 mg). La mezcla se hidrogenó bajo balón de hidrógeno durante 20 h. Luego se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío para dar 2-(4-aminofenoxi)acetato de terc-butilo.

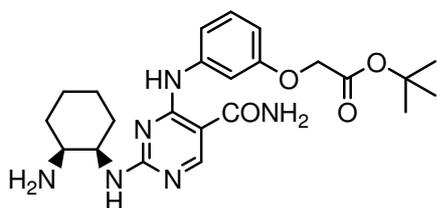
10 El compuesto del título se sintetizó análogamente usando 2-(4-aminofenoxi)acetato de terc-butilo y cis-1,2-diaminociclohexano. MS 457,2 (M+H); UV 243,8, 290,0.

Ejemplo de Referencia 186 ácido 2-(4-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acético (racemato)



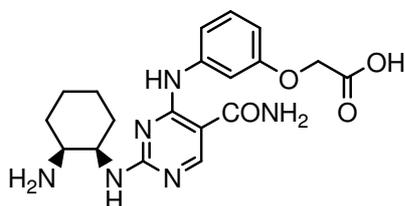
15 Una solución de 2-(4-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acetato de terc-butilo racemato (180 mg, 0,395 mmoles) en TFA (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego se concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar el compuesto del título (60 mg). MS 401,2 (M+H).

20 Ejemplo de Referencia 187 2-(3-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acetato de ter-butilo (racemato)



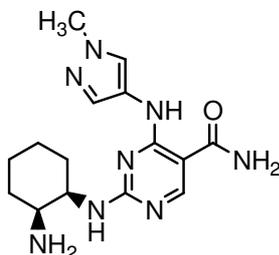
El compuesto del título se sintetizó análogamente como compuesto 2-(4-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acetato de terc-butilo (racemato), usando 3-nitrofenol en lugar del 4-nitrofenol. MS 457,2 (M+H); UV 242,6, 290,0.

- 5 Ejemplo de Referencia 188 ácido 2-(3-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acético (racemato)



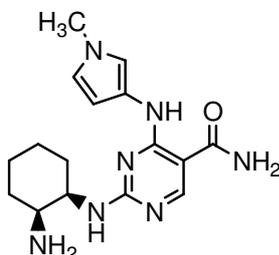
El compuesto del título se sintetizó análogamente como compuesto ácido 2-(4-(2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-5-carbamoilpirimidin-4-ilamino)fenoxi)acético (racemato). MS 401,2 (M+H); UV 242,6, 290 nM.

- 10 Ejemplo de Referencia 189 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-pirazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

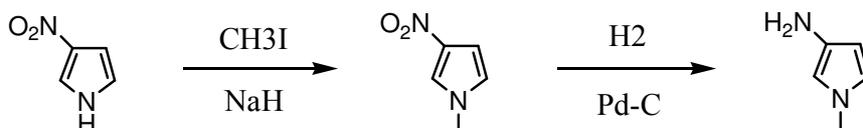


El compuesto del título se sintetizó análogamente usando 1-metil-1H-pirazol-4-amina. MS 331,4 (M+H). UV 241,2, 292,1 nm

- Ejemplo de Referencia 190 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-pirrol-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

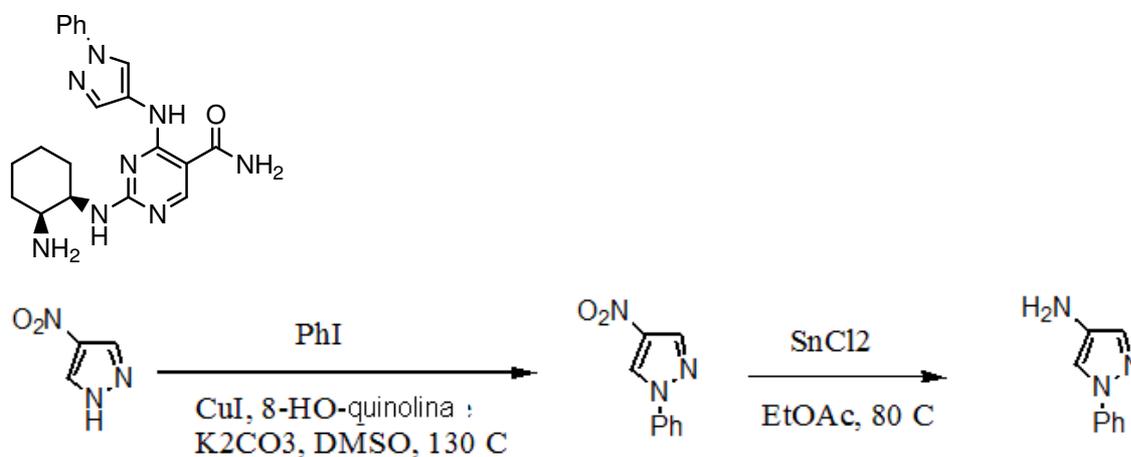


5 A hidruro de sodio (300 mg, 60% en aceite mineral, 7,50 mmoles) en un recipiente, que se lavó con hexano dos veces, se añadió una solución de 3-nitropirrol (500 mg, 4,46 mmoles) y yodometano (0,560 mL, 8,97 mmoles) en DMF (4 mL). Se produjo gas hidrógeno. La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 20 h. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío para dar 1-metil-3-nitro-1H-pirrol (494 mg).

Una mezcla de 1-metil-3-nitro-1H-pirrol (488 mg, 3,87 mmoles) y Pd-C (10%, 110 mg) en MeOH (15 mL) (que contenía 8 gotas de HCl 6 N) se hidrogenó bajo balón de hidrógeno durante 20 h. La mezcla se filtró a través de celite. Al filtrado, se añadió HCl 4 N en dioxano (2 mL). La solución se concentró al vacío para dar hidrocloreto de 1-metil-1H-pirrol-3-amina en forma de un sólido (514 mg).

10 El compuesto del título se sintetizó luego análogamente usando hidrocloreto de 1-metil-1H-pirrol-3-amina. MS 330,3 (M+H); UV 237,6, 313,1 nm.

Ejemplo de Referencia 191 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-fenil-1H-pirazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

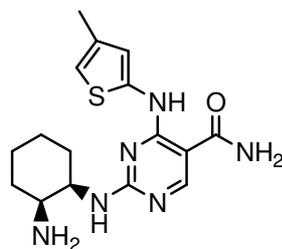


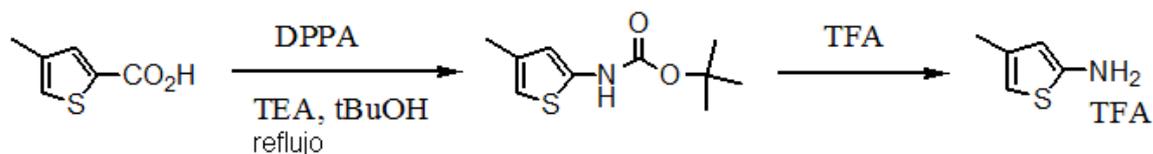
15 Una mezcla de 4-nitropirazol (270 mg, 2,38 mmoles), yodobenceno (485 mg, 2,38 mmoles), 8-hidroxiquinolina (60 mg, 0,41 mmoles) y K₂CO₃ (600 mg, 4,34 mmoles) en DMSO (3 mL) se desgasificó con argón antes de cargar con CuI (45 mg, 0,23 mmoles). La mezcla en un tubo sellado se calentó a 130°C durante 20 h. El agua se añadió para inducir una precipitación. El precipitado se recogió para dar 4-nitro-1-fenil-1H-pirazol (454 mg).

20 Una mezcla de 4-nitro-1-fenil-1H-pirazol (440 mg, 2,32 mmoles) y dihidrato de SnCl₂ (2,18 g, 9,66 mmoles) en EtOAc (15 mL) se agitó a 80°C durante 3 h. Se añadió NaOH acuoso 1 N para llevar el pH a 12. La mezcla se filtró a través de celite. La fase orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar 1-fenil-1H-pirazol-4-amina en forma de un sólido (173 mg).

El compuesto del título se sintetizó luego análogamente usando 1-fenil-1H-pirazol-4-amina. MS 393,4 (M+H); UV 240,0, 303,2.

25 Ejemplo de Referencia 192 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metiltiofen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



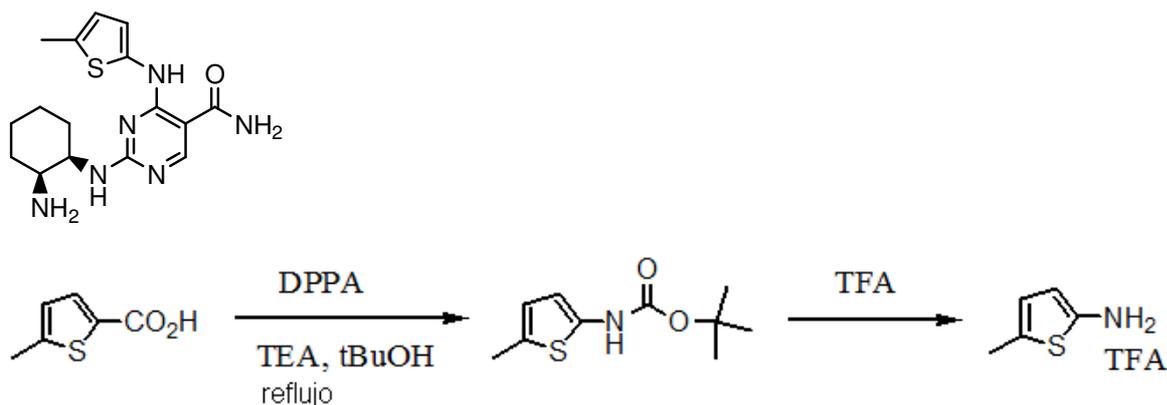


5 Una solución de ácido 4-metilthiufen-2-carboxílico (1,42 g, 10,0 mmoles), trietilamina (1,50 mL, 10,8 mmoles) y difenilfosforilazida (2,15 mL, 10,0 mmoles) en tBuOH (20 mL) se agitó a reflujo durante 5 h. El tBuOH se eliminó al vacío. Se añadieron Et₂O y agua. La fase orgánica se lavó con 5% de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío. El residuo se purificó por una columna de gel de sílice, que se eluyó con 0-10% de EtOAc en hexano para dar 4-metilthiufen-2-ilcarbamato de terc-butilo en forma de un sólido (0,880 g).

Una solución de 4-metilthiufen-2-ilcarbamato de terc-butilo (0,880 g, 4,13 mmoles) en CH₂Cl₂ (8 mL) y TFA (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Los solventes se eliminaron al vacío para dar 4-metilthiufen-2-amina en forma de sal de ácido trifluoroacético (0,920 g).

10 El compuesto del título se sintetizó luego análogamente usando 4-metilthiufen-2-amina. MS 347,3 (M+H); UV 244,9, 326,1 nm.

Ejemplo de Referencia 193 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(5-metilthiufen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

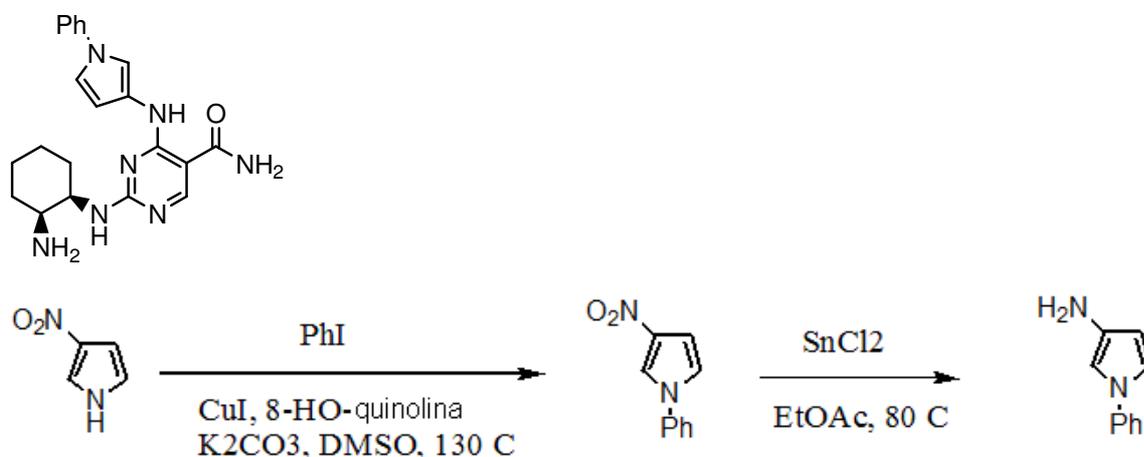


15 Una solución de ácido 5-metilthiufen-2-carboxílico (1,42 g, 10,0 mmoles), trietilamina (1,50 mL, 10,8 mmoles) y difenilfosforilazida (2,15 mL, 10,0 mmoles) en tBuOH (20 mL) se agitó a reflujo durante 5 h. El tBuOH se eliminó al vacío. Se añadieron Et₂O y agua. La fase orgánica se lavó con 5% de NaHCO₃, luego con NaOH 1 N y se filtró. El filtrado se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío para dar 5-metilthiufen-2-ilcarbamato de terc-butilo en forma de un sólido (0,825 g).

20 Una solución de 5-metilthiufen-2-ilcarbamato de terc-butilo (0,825 g, 3,87 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 mL) y TFA (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Los solventes se eliminaron al vacío para dar 5-metilthiufen-2-amina en forma de sal de ácido trifluoroacético (0,870 g).

El compuesto del título se sintetizó luego análogamente usando 5-metilthiufen-2-amina. MS 347,3 (M+H); UV 247,3, 325,6 nm.

25 Ejemplo de Referencia 194 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-fenil-1H-pirrol-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

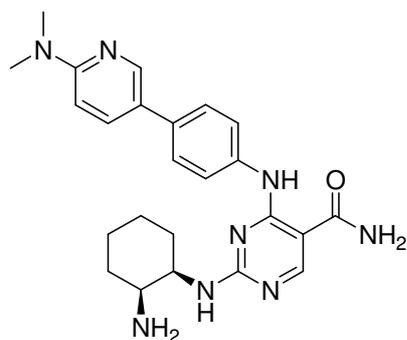


5 Una mezcla de 3-nitropirrol (270 mg, 2,41 mmoles), yodobenceno (0,267 mL, 2,39 mmoles), 8-hidroxiquinolina (60 mg, 0,41 mmoles) y K_2CO_3 (600 mg, 4,34 mmoles) en DMSO (3 mL) se desgasificó con argón antes de cargar con CuI (45 mg, 0,23 mmoles). La mezcla en un tubo sellado se calentó a 130°C durante 20 h. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con HCl 1 N, luego con 5% de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 3-nitro-1-fenil-1H-pirrol (410 mg).

10 Una mezcla de 3-nitro-1-fenil-1H-pirrol (410 mg, 2,18 mmoles) y dihidrato de SnCl_2 (2,00 g, 8,86 mmoles) en EtOAc (15 mL) se agitó a 80°C durante 3 h. Se añadió NaOH acuoso 1 N para llevar el pH a 12. La mezcla se filtró a través de celite. La fase orgánica se separó, se lavó con 5% de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar 1-fenil-1H-pirrol-3-amina en forma de un sólido (323 mg).

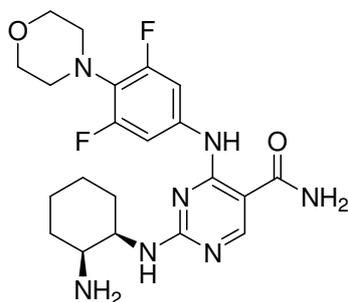
El compuesto del título se sintetizó luego análogamente usando 1-fenil-1H-pirrol-3-amina. MS 392,4 (M+H); UV 240,0, 314,3 nM.

Ejemplo 195 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(6-(dimetilamino)piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



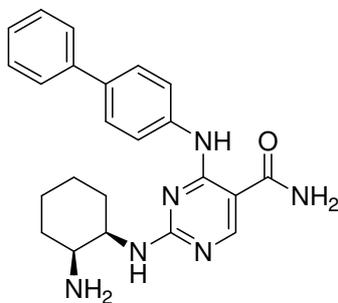
15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 45 con ácido 6-(dimetilamino)piridin-3-ilborónico para reemplazar ácido borónico **116.1**. MS experimental para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_8\text{O}$ como (M+H)⁺ 447,3. UV: $\lambda = 244,0, 316,4$

20 Ejemplo de Referencia 196 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3,5-difluoro-4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



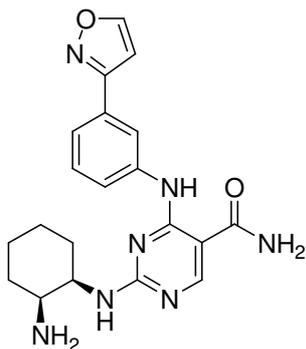
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 3,5-difluoro-4-morfolinoanilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{21}H_{27}F_2N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 448,1. UV: $\lambda = 240,4, 304,5$.

5 Ejemplo de Referencia 197 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(bifenil-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



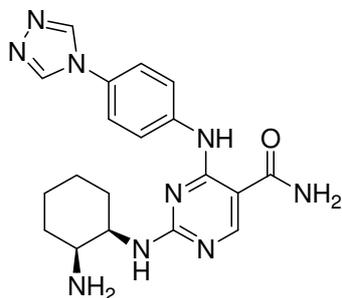
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con bifenil-4-amina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{23}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 403,4. UV: $\lambda = 239,3, 308,7$.

10 Ejemplo 198 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(isoxazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



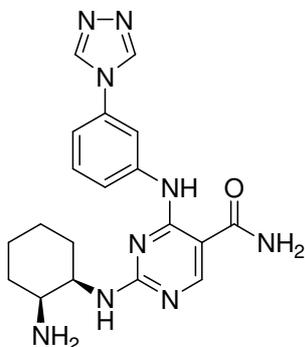
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 3-(isoxazol-3-il)anilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV: $\lambda = 243,6, 286,5$.

15 Ejemplo 199 4-(4-(4H-1,2,4-triazol-4-ilfenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



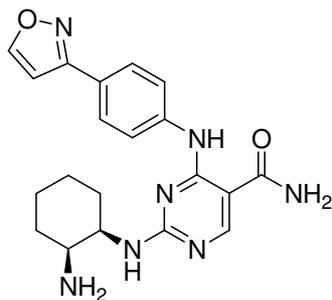
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 4-(4*H*-1,2,4-triazol-4-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₁₉H₂₃N₉O como (M+H)⁺ 394,4. UV: λ= 245,2, 293,8.

5 Ejemplo 200 4-(3-(4*H*-1,2,4-triazol-4-ilfenilamino)-2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 3 con 3-(4*H*-1,2,4-triazol-4-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₁₉H₂₃N₉O como (M+H)⁺ 394,4. UV: λ= 239,9.

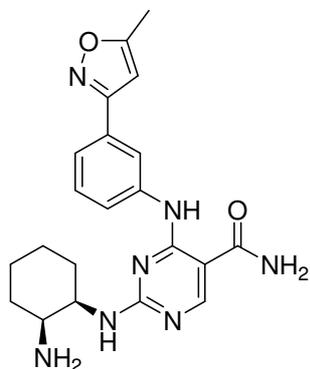
Ejemplo 201 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(isoxazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

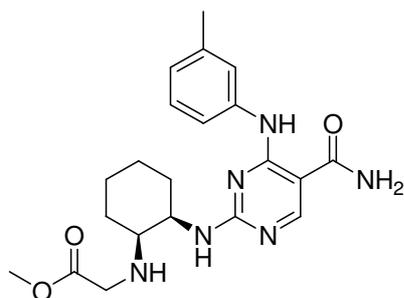
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 4-(isoxazol-3-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para C₂₀H₂₃N₇O₂ como (M+H)⁺ 394,4. UV: λ= 244,0, 303,3

Ejemplo 202 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-metilisoxazol-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



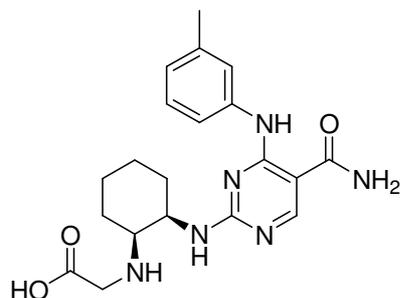
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 3-(5-metilisoxazol-3-il)anilina para reemplazar la anilina **74.1**. MS experimental para $C_{21}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV: $\lambda = 243,6, 287,1$.

- 5 Ejemplo de Referencia 203. 2-((1S,2R)-2-(5-carbamoil-4-(m-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)ciclohexilamino)acetato de metilo



MS experimental para $C_{21}H_{28}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 413,1. UV: $\lambda = 241,4, 288,8$.

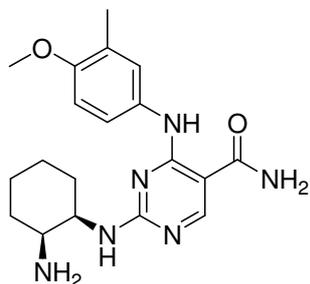
Ejemplo de Referencia 204. Ácido 2-((1S,2R)-2-(5-carbamoil-4-(m-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)ciclohexilamino)acético



10

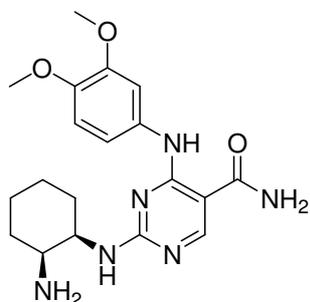
MS experimental para $C_{20}H_{26}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 399,2. UV: $\lambda = 240,5, 287,8$.

Ejemplo de Referencia 205 2-((1S, 2R)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metoxi-3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



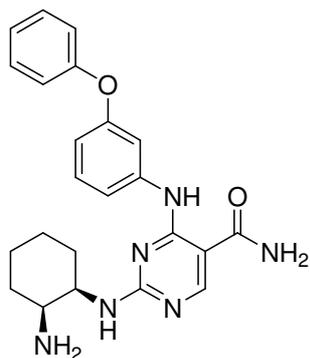
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 4-metoxi-3-metilnilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{19}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 371,2. UV: $\lambda = 238,1, 292,6$.

- 5 Ejemplo de Referencia 206 2-((1S, 2R)-2-aminociclohexilamino)-4-(3,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



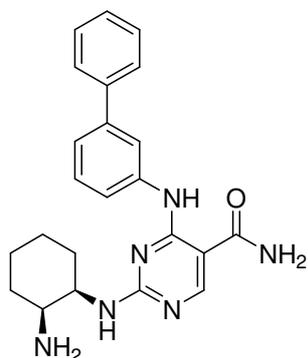
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 3,4-dimetoxianilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{19}H_{26}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 387,1. UV: $\lambda = 236,9, 286,6$.

- 10 Ejemplo de Referencia 207 2-((1S, 2R)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fenoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



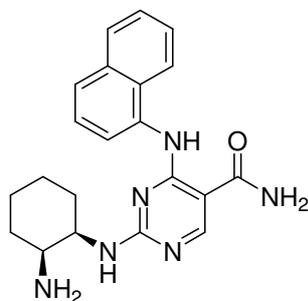
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con 3-fenoxianilina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{23}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 419,3. UV: $\lambda = 240,4, 292,6$.

- 15 Ejemplo de Referencia 208. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 1 con bifenil-3-amina para reemplazar la anilina **72.4**. MS experimental para $C_{23}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 403,4. UV: $\lambda = 246,3$

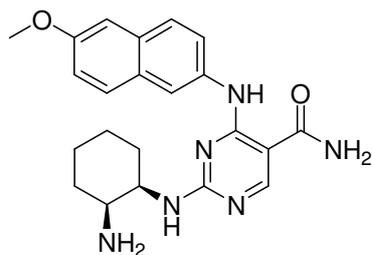
Ejemplo de Referencia 209 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(naftalen-1-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

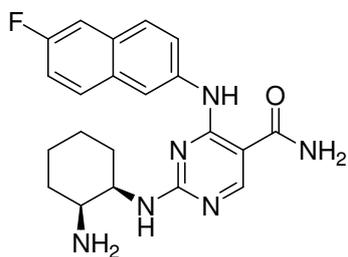
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con naftalen-1-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 377,1.

Ejemplo de Referencia 210. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-metoxinaftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



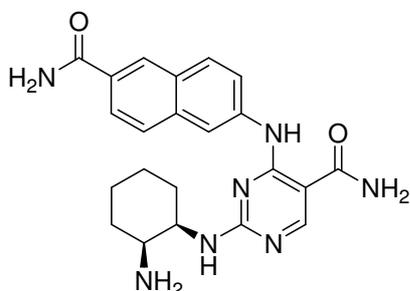
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-metoxinaftalen-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{22}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 407,2. UV: $\lambda = 227,5, 319,9$.

Ejemplo de Referencia 211 a. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-fluoronaftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-fluoronaftalen-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{21}H_{23}FN_6O$ como $(M+H)^+$ 395.1. UV: $\lambda = 212,2, 244,0, 306,8$.

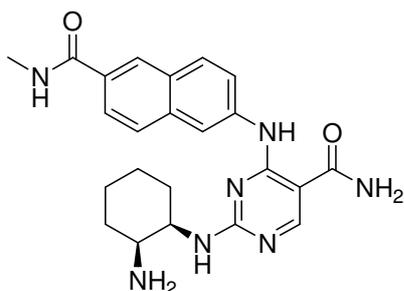
- 5 Ejemplo de Referencia 211b: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-carbamoi-naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-carbamoi-naftalen-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 420,2. UV: $\lambda = 223,9, 318,8$.

10

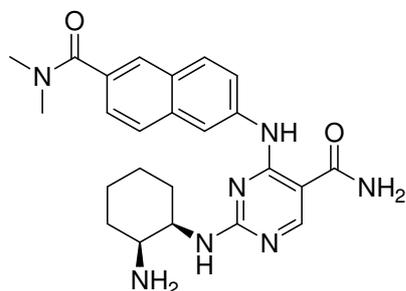
Ejemplo de Referencia 212. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-(metilcarbamoi)naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-(metilcarbamoi)naftalen-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{23}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 434,3. UV: $\lambda = 219,2, 235,7, 318,8$.

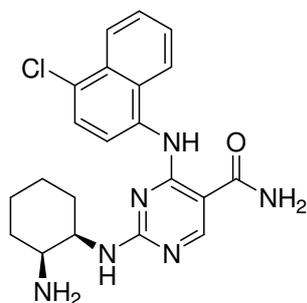
15

Ejemplo de Referencia 213. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-(dimetilcarbamoi)naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



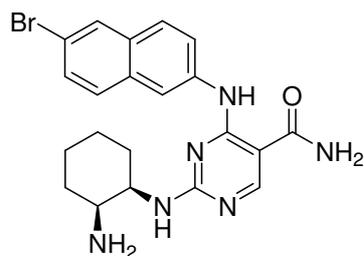
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-(dimetilcarbamoyl)naftalen-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{24}H_{29}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 448,2. UV: $\lambda = 218,0, 314,0$.

- 5 Ejemplo de Referencia 214. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-cloronaftalen-1-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



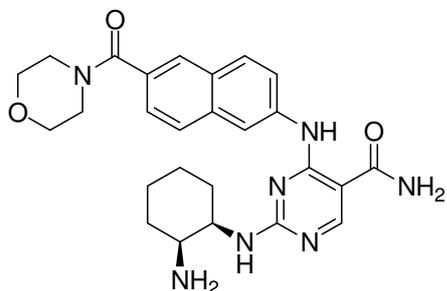
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 4-cloronaftalenil-1-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{21}H_{23}ClN_6O$ como $(M+H)^+$ 411,2, 413,1 (patrón de Cl). UV: $\lambda = 223,9, 293,8$.

- 10 Ejemplo de Referencia 215. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-bromonaftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



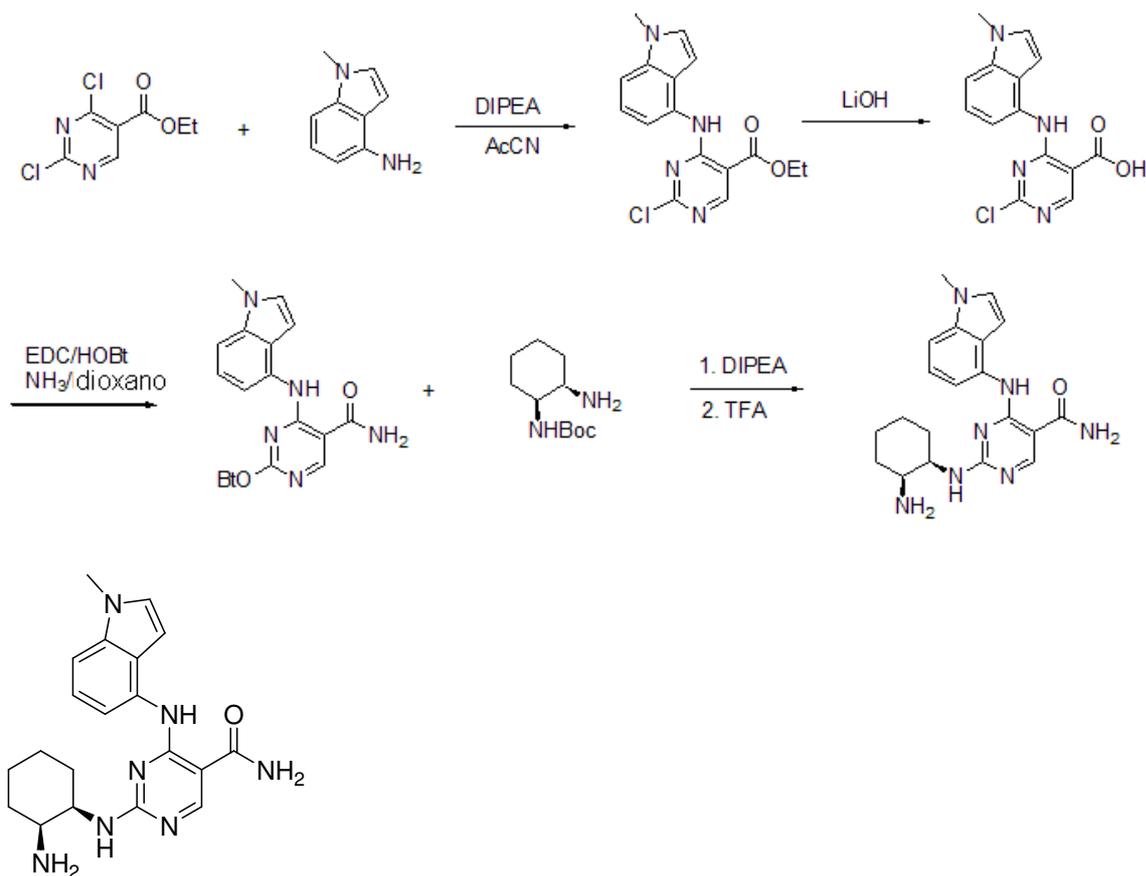
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 4-bromonaftalenil-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{21}H_{23}BrN_6O$ como $(M+H)^+$ 455,1, 457,1 (patrón de Br).

- 15 Ejemplo de Referencia 217. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(6-(morfolin-4-carbonil)naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 152 con 6-(morfolin-4-carbonil)naftalenil-2-amina para reemplazar la anilina **208.1**. MS experimental para $C_{26}H_{31}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 490,4. UV: $\lambda = 220,4, 315,2$.

5 Ejemplo de Referencia 218. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-(metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 Etapa 1: A una solución de 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (328 mg, 1,48 mmoles) y 1-metil-1H-indol-4-amina (260 mg, 1,78 mmoles) en CH_3CN (6 mL) a temperatura ambiente, se añadió DIEA (0,4 mL, 2,22 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió agua (15 mL) para inducir una precipitación. El precipitado se recogió, se secó al vacío para dar 2-cloro-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino) pirimidin-5-carboxilato de etilo en forma de un sólido.

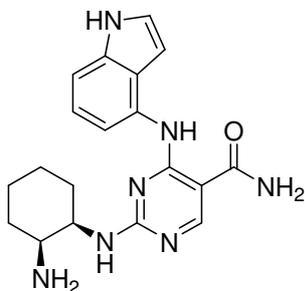
Etapa 2: A una solución de 2-cloro-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino) pirimidin-5-carboxilato de etilo (crudo de la etapa 1) en THF (4 mL), se añadió LiOH 1 N acuoso (2,25 mL, 2,25 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la

noche. Después de acidificar la mezcla con HCl 1 N, los sólidos blancos se precipitaron, que se recolectaron y se secaron al vacío para dar ácido 2-cloro-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxílico (325 mg). MS 303,3, 305,3 (M+H, patrón de Cl)

5 Etapa 3: A una solución de ácido 2-cloro-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxílico (325 mg, 1,08 mmoles) y HOBt (198 mg, 1,29 mmoles) en DMF (4 mL), se añadió EDC (248 mg, 1,29 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió amoníaco (0,5 M en dioxano, 8,00 mL y 4,00 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con HCl 1 N, luego con 5% de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío para dar 2-(1*H*-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida (378 mg). MS 401,4 (M+H)

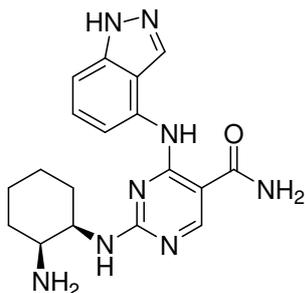
10 Etapa 4: A un sólido de 2-(1*H*-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida (100 mg, 0,25 mmoles) en vial se añadió (1*S*, 2*R*)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (solución 0,3 M en NMP, 1,25 mL, 0,375 mmoles) y DIPEA (0,09 mL, 0,5 mmoles). Se calentó a 80°C durante 2 h, se enfrió y se purificó por HPLC preparativa para dar 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida (21 mg). MS experimental para C₂₀H₂₅N₇O como (M+H)⁺ 380,4. UV: λ = 219,2, 241,6, 336,7.

15 Ejemplo de Referencia 219a. 4-(1*H*-indol-4-ilamino)-2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



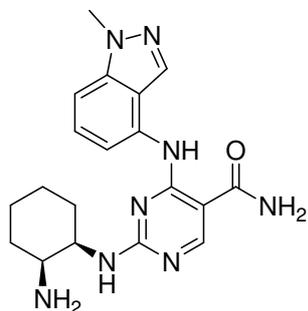
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1*H*-indol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para C₁₉H₂₃N₇O como (M+H)⁺ 366,3. UV: λ = 216,7, 239,9, 330,3.

20 Ejemplo de Referencia 219b. 4-(1*H*-indazol-4-ilamino)-2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



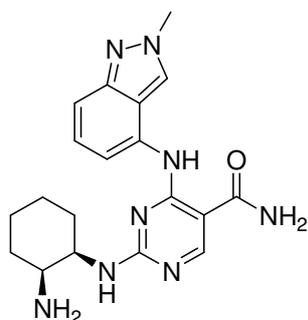
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1*H*-indazol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para C₁₈H₂₂N₈O como (M+H)⁺ 367,4. UV: λ = 205,8, 240,5, 314,3

25 Ejemplo de Referencia 219c. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



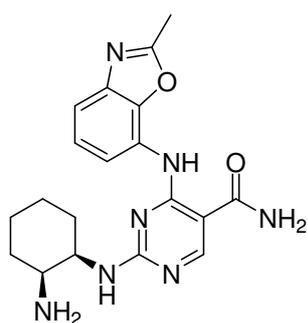
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1-metil-1H-indazol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1H-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 381,4. UV: $\lambda =$.

- 5 Ejemplo de Referencia 220. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metil-2H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



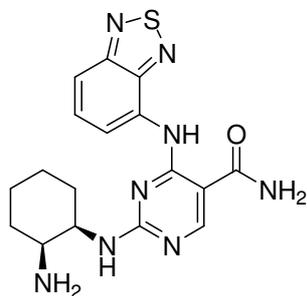
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 2-metil-2H-indazol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1H-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 381,5. UV: $\lambda = 210,6, 243,0, 329,1$.

- 10 Ejemplo de Referencia 221. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metilbenzo[d]oxazol-7-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



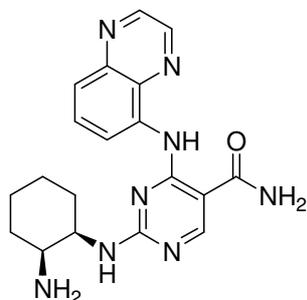
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 2-metilbenzo[d]oxazol-7-ilamina para reemplazar 1-metil-1H-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 382,4. UV: $\lambda = 238,1$.

- 15 Ejemplo de Referencia 222. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo[c][1,2,5]tiadiazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



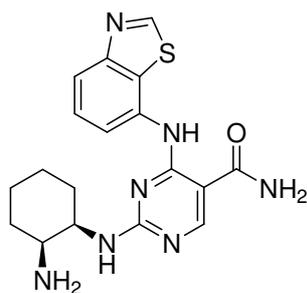
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con benzo[c][1,2,5]tiadiazol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{17}H_{20}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 385,3. UV: $\lambda = 234,5, 298,5, 315,2$.

- 5 Ejemplo de Referencia 223. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(quinoxalin-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



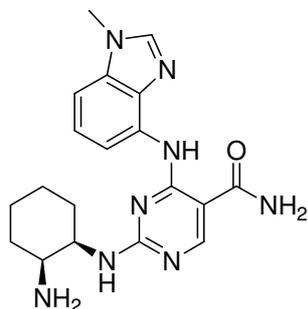
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con quinoxalinil-5-amina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 379,3. UV: $\lambda = 203,4, 245,4$.

- 10 Ejemplo de Referencia 224. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo[d]tiazol-7-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



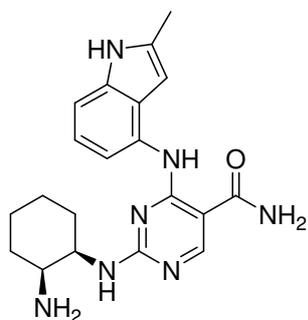
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con benzo[d]tiazol-7-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 205,1, 242,8, 290,2$.

- 15 Ejemplo de Referencia 225. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



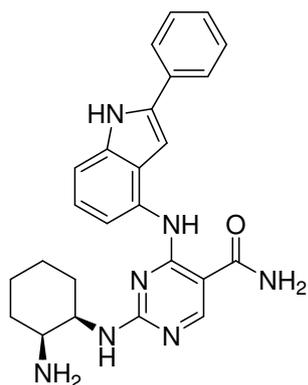
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 381,4. UV: $\lambda = 202,8, 239,3$.

- 5 Ejemplo de Referencia 226. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



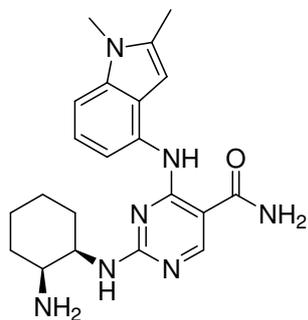
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 2-metil-1*H*-indol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV: $\lambda = 220,4, 239,3, 336,7$.

- 10 Ejemplo de Referencia 227. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-fenil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



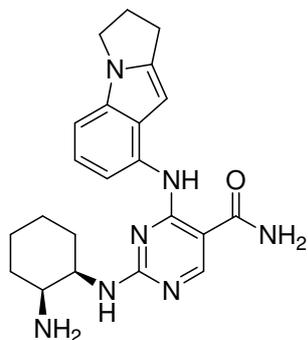
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 2-fenil-1*H*-indol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{25}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 442,5. UV: $\lambda = 241,6, 293,8$.

- 15 Ejemplo de Referencia 228. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(1,2-dimetil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1,2-dimetil-1*H*-indol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV: $\lambda = 222,8, 242,8$.

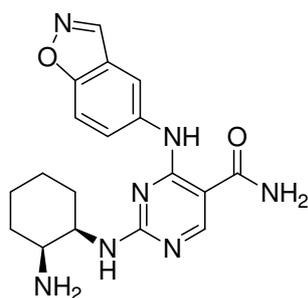
- 5 Ejemplo de Referencia 229. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 120 con 2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]indol-8-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{22}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 406,5. UV: $\lambda = 222,8, 241,6$.

10

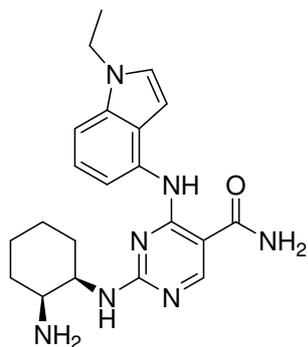
Ejemplo de Referencia 230. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(benzo-*[d]*isoxazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con benzo-*[d]*isoxazol-5-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV: $\lambda = 203,9, 236,9, 294,9$.

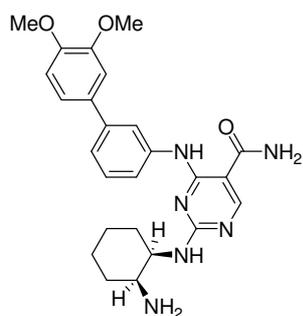
15

Ejemplo de Referencia 231. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(1-etil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

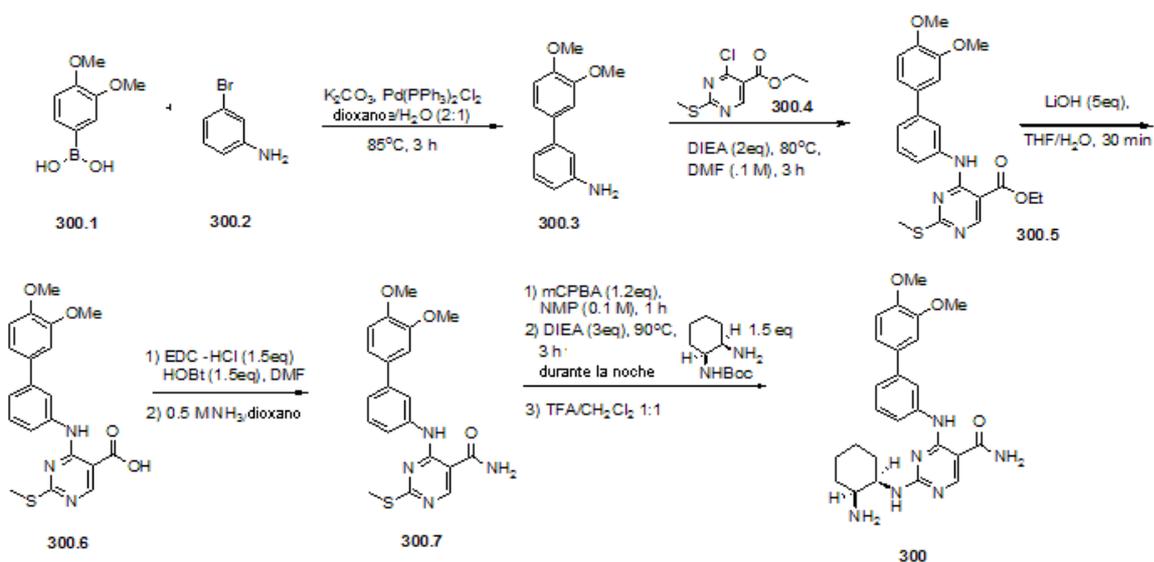


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218 con 1-etil-1*H*-indol-4-ilamina para reemplazar 1-metil-1*H*-indol-4-ilamina. MS experimental para C₂₁H₂₇N₇O como (M+H)⁺ 394,4. UV: λ = 220,2, 242,6.

- 5 Ejemplo de Referencia 232. 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3,4-dimetoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



El carbonato de potasio (1,81 g, 13,1 mmoles) se disolvió en una mezcla 2:1 de dioxano/agua (45 mL). Esta solución se añadió a ácido 3,4-dimetoxifenilborónico (**300,1**; 799 mg, 4,39 mmoles) [CAS 122775-35-3] y 3-bromoanilina (**300,2**; 756 mg, 4,39 mmoles) [CAS 591-19-5]. La solución resultante se desgasificó con argón durante 5 minutos. Se añadió dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (598 mg, 0,85 mmoles) [CAS 13965-03-2] y la reacción se agitó durante 3 h a 85°C en un tubo sellado. La reacción se enfrió y se diluyó con EtOAc (300 mL), se lavó con salmuera (3x100 mL), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo resultante se sometió a cromatografía flash (gradiente de 20% al 70% de EtOAc en hexanos) que resultó en 360 mg de **300,3** (36%).

A **300,3** (360 mg, 1,57 mmoles) en DMF (15 mL) se añadió éster etílico del ácido 4-cloro-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxílico (365 mg, 1,57 mmoles) [CAS 5909-24-0] y DIEA (562 µL, 3,14 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a 80°C en un tubo sellado. La reacción se enfrió, se añadió agua y se formó un precipitado. El precipitado se filtró, se lavó con agua fría y se secó para dar **300,4** en rendimiento cuantitativo.

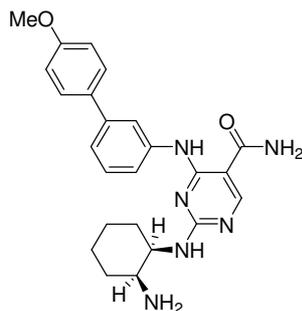
El sólido resultante (667 mg, 1,57 mmoles) se disolvió en THF (10 mL). A ello se añadió LiOH (188 mg, 7,85 mmoles) en H₂O (5 mL). La reacción se agitó durante 30 min y se acidificó hasta pH~3 con 1 M HCl. El THF se eliminó al vacío y se añadió agua helada a la mezcla de reacción. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para dar 497 mg (88%) de **300,5**.

El ácido carboxílico **300,5** (460 mg, 1,15 mmoles) se disolvió en 10 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreto de EDC (328 mg, 1,72 mmoles) e hidrato de HOBt (232 mg, 1,72 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 7 mL, 3,5 mmoles) y la mezcla y se agitó durante 1 h. El dioxano se eliminó al vacío y se añadió agua helada a la mezcla de reacción. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para dar 445 mg (97%) de **300,6**.

El compuesto **300,6** (70 mg, 0,18 mmoles) se disolvió en 4 mL de NMP. A ello se añadió mCPBA (70% de pureza mínima, 50 mg, 0,21 mmoles) que se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos.

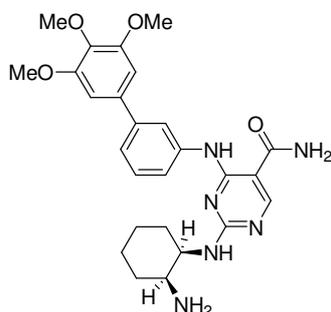
A ello se añadieron luego una solución de (1*S*,2*R*)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo (0,3 M, 0,9 mL, 0,27 mmoles) y DIEA (94 µL, 0,54 mmoles). La mezcla se agitó durante 3 h a 90°C en un tubo sellado. La mezcla se enfrió, se diluyó con EtOAc, se lavó con una solución acuosa saturada de Na₂CO₃, agua y salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar el intermediario crudo que se agitó en una mezcla 1:1 de TFA y DCM a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para C₂₅H₃₀N₆O₃ como (M+H)⁺ 463,3. UV λ=210. 243 nm. δ 1,40-1,83 (m, 8H), 3,60-3,68 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 4,43-4,51 (m, 1H), 7,60-7,66 (m, 1H), 7,90 (d, 1H), 8,04 (s, 2H), 8,52-8,58 (m, 1H), 8,62 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 233: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



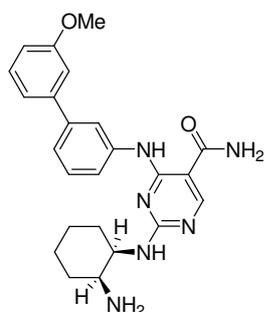
Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la mostrada en el Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 4-metoxifenilborónico [CAS 5720-07-0] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para C₂₄H₂₈N₆O₂ como (M+H)⁺ 433,4. UV λ =248 nm. δ 1,25-1,80 (m, 8H), 3,58-3,64 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 4,20-4,28 (m, 1H), 7,02 (d, 2H), 7,36-7,48 (m, 3H), 7,59 (d, 2H), 8,03 (br s, 1H), 8,55 (s, 1H)

Ejemplo de Referencia 234: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3,4-trimetoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



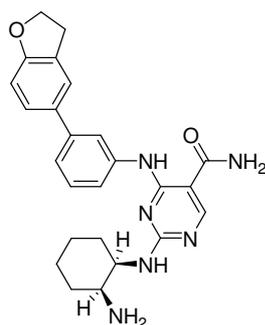
5 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 3,4,5-trimetoxifenilborónico [CAS 182163-96-8] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{26}H_{32}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 493,4. UV $\lambda=245$ nm. δ 1,20-1,80 (m, 8H), 3,61-3,68 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,92 (s, 6H), 4,15-4,22 (m, 1H), 6,92 (s, 2H), 7,45 (br s, 3H), 8,05 (br s, 1H), 8,55 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 235: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3-metoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



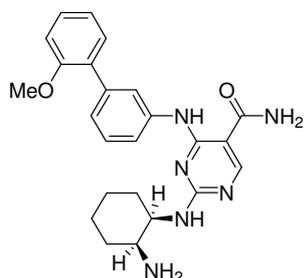
10 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 3-metoxifenilborónico [CAS 10365-98-7] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 433,3. UV $\lambda=241$ nm.

Ejemplo de Referencia 236: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3-dihidrobenzofuran-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



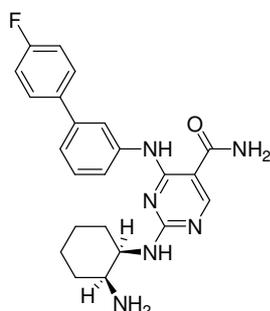
15 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido (2,3-dihidrobencob[*b*]furan-5-il)borónico [CAS 227305-69-3] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{25}H_{28}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 445,3. UV $\lambda=245, 276$ nm.

Ejemplo de Referencia 237: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2-metoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 2-metoxifenilborónico [CAS 5720-06-9] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 433,3. UV $\lambda=244, 288$ nm.

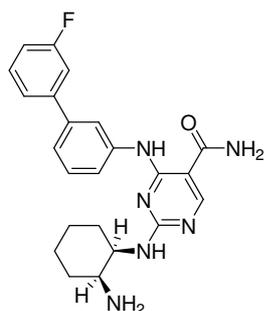
5 Ejemplo de Referencia 238: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-fluorofenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 4-fluorofenilborónico [CAS 1765-93-1] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{23}H_{25}FN_6O$ como $(M+H)^+$ 421,3. UV $\lambda=245$ nm. δ 1,35-1,85 (m, 8H), 3,58-3,65 (m, 1H), 4,25-4,31 (m, 1H), 7,09-7,18 (m, 1H), 7,40-7,54 (m, 6H), 8,11 (br s, 1H), 8,53 (s, 1H).

10

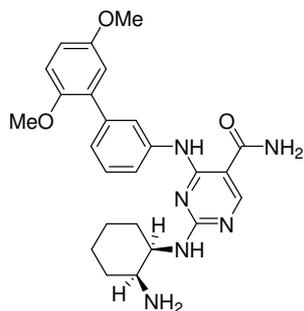
Ejemplo de Referencia 239: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3-fluorofenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 3-fluorofenilborónico [CAS 768-35-4] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{23}H_{25}FN_6O$ como $(M+H)^+$ 421,3. UV $\lambda=242$ nm.

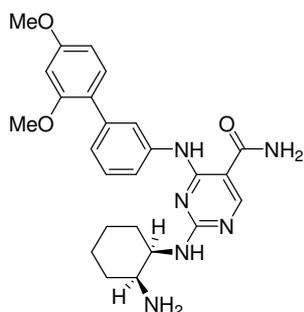
15

Ejemplo de Referencia 240: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,5-dimetoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 2,5-dimetoxifenilborónico [CAS 107099-99-0] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{25}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 463,3. UV $\lambda = 246$ nm.

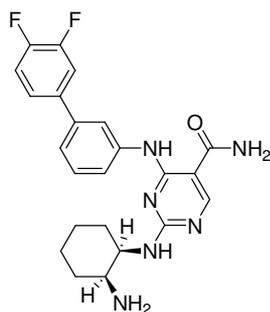
- 5 Ejemplo de Referencia 241: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,4-dimetoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 2,4-dimetoxifenilborónico [CAS 133730-34-4] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{25}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 463,3. UV $\lambda = 245, 288$ nm.

10

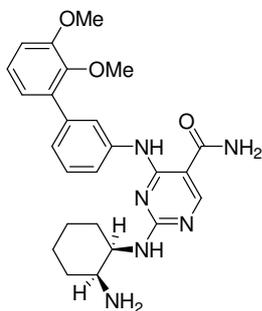
- Ejemplo de Referencia 242: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3,4-difluorofenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

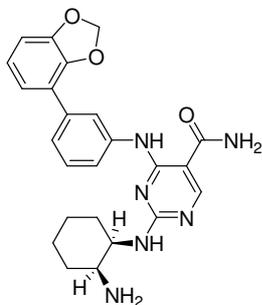
Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 3,4-difluorofenilborónico [CAS 168267-41-2] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{23}H_{24}F_2N_6O$ como $(M+H)^+$ 439,3. UV $\lambda = 245$ nm.

- Ejemplo de Referencia 243: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3-dimetoxifenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 2,3-dimetoxifenilborónico [CAS 40972-86-9] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{25}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 463,3. UV $\lambda = 244, 288$ nm.

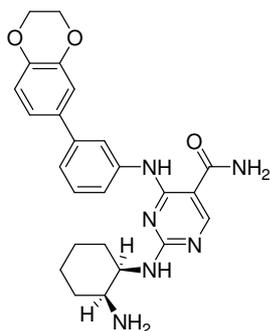
- 5 Ejemplo de Referencia 244: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y 4-bromo-1,3-benzodioxol [CAS 6698-13-1] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{24}H_{26}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 447,4. UV $\lambda = 242$ nm.

10

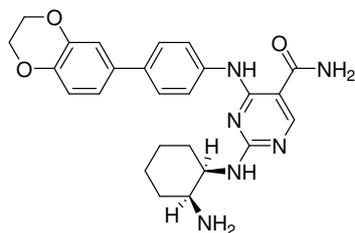
- Ejemplo de Referencia 245: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y 6-yodobenzodioxano [CAS 57744-67-9] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{25}H_{28}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 461,4. UV $\lambda = 211, 243$ nm. δ 1,35-1,85 (m, 8H), 3,58-3,65 (m, 1H), 4,30-4,38 (m, 5H), 6,95 (d, 1H), 7,10-7,18 (m, 2H), 7,30-7,36 (m, 1H), 7,38-7,45 (m, 2H), 8,14 (br s, 1H), 8,50 (s, 1H)

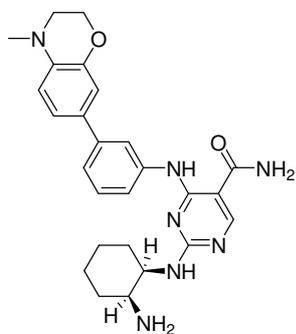
15

- 20 Ejemplo de Referencia 246: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



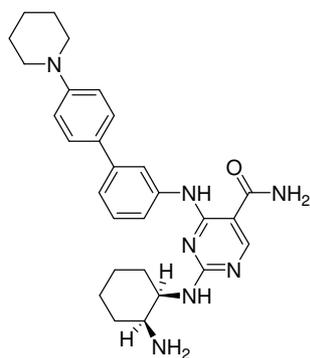
- 5 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 214360-73-3] y 6-yodobenzodioxano [CAS 57744-67-9] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{25}H_{28}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 461,4. UV $\lambda=242, 316$ nm. δ 1,50-1,95 (m, 8H), 3,70-3,78 (m, 1H), 4,25 (s, 4H), 4,34-4,41 (m, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,08-7,15 (m, 2H), 7,58-7,68 (m, 4H), 8,50 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 247: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-7-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

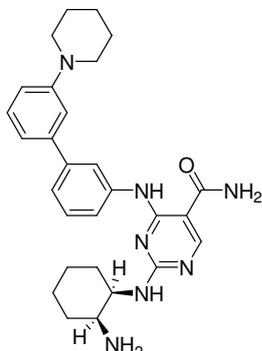


- 10 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y 7-bromo-4-metil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina [CAS 154264-95-6] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{26}H_{31}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 474,4. UV $\lambda=216, 238, 303$ nm.

Ejemplo de Referencia 248: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-piperidinilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida.

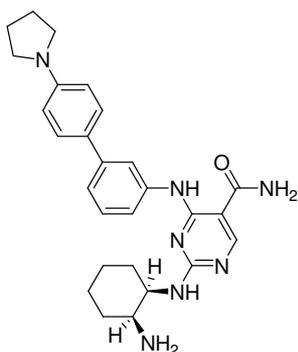


- 15 La biarilanilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y *N*-(4-bromofenil)piperidina [CAS 22148-20-5] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{28}H_{35}N_7O$ como $(M+H)^+$ 486,5. UV $\lambda=252$ nm.
- 20 Ejemplo de Referencia 249: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3-piperidinilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



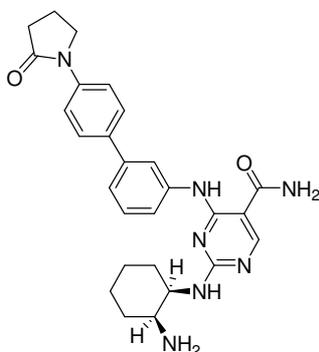
- 5 La biarilanilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y N-(3-bromofenil)piperidina [CAS 84964-24-9] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{28}H_{35}N_7O$ como $(M+H)^+$ 486,5. UV $\lambda=247$ nm.

Ejemplo de Referencia 250: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-pirrolidinilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



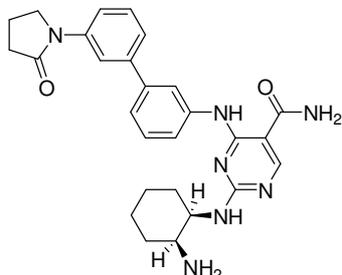
- 10 La biarilanilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y N-(4-bromofenil)pirrolidina [CAS 22090-26-2] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{27}H_{33}N_7O$ como $(M+H)^+$ 472,5. UV $\lambda=246$ nm.

Ejemplo de Referencia 251: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-pirrolidin-2-oxo-ilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



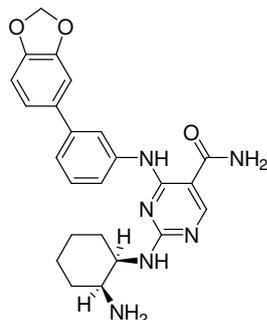
- 15 Este ejemplo era un subproducto en la formación del Ejemplo de Referencia 250. MS experimental para $C_{27}H_{31}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 486,5. UV $\lambda=248, 282$ nm.

Ejemplo de Referencia 252 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3-pirrolidin-2-oxo-ilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



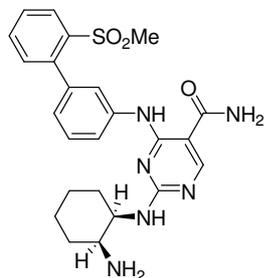
5 La biarilanilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y N-(3-bromofenil)pirrolidina [CAS 219928-13-9] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para C₂₇H₃₁N₇O₂ como (M+H)⁺ 486,5. UV λ=245 nm.

10 Ejemplo de Referencia 253: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



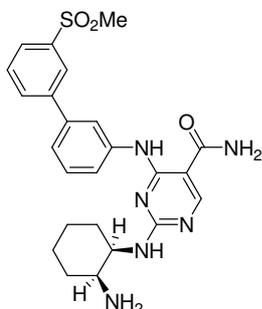
15 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 1,3-benzodioxol-5-borónico [CAS 94839-07-3] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para C₂₄H₂₆N₆O₃ como (M+H)⁺ 447,3. UV λ= 239, 274, 296 nm. δ 1,35-1,85 (m, 8H), 3,58-3,65 (m, 1H), 4,25-4,31 (m, 1H), 6,00 (s, 2H) 6,93 (d, 1H), 7,10-7,18 (m, 2H), 7,37-7,50 (m, 3H), 8,08 (br s, 1H), 8,53 (s, 1H)

Ejemplo de Referencia 254: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2-metilsulfonilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida.



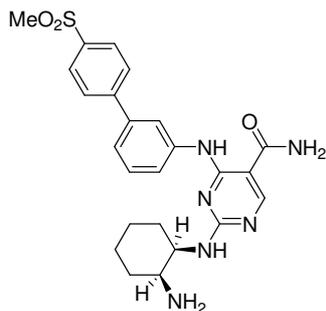
20 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 2-metilsulfonilfenilborónico [CAS 330804-03-0] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para C₂₄H₂₈N₆O₃S como (M+H)⁺ 481,4. UV λ= 240, 285 nm.

Ejemplo de Referencia 255: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(3-metilsulfonilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



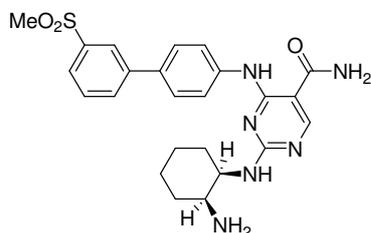
5 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 3-metilsulfonilfenilborónico [373384-18-0] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_3S$ como $(M+H)^+$ 481,4. UV $\lambda=$ 246 nm.

Ejemplo de Referencia 256: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metilsulfonilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



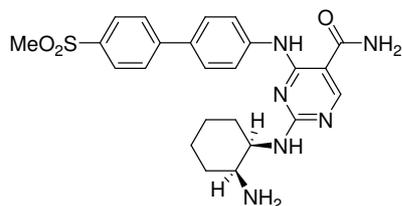
10 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 4-metilsulfonilfenilborónico [149104-88-1] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_3S$ como $(M+H)^+$ 481,4. UV $\lambda=$ 250 nm. δ 1,25-1,85 (m, 8H), 3,18 (s, 3H), 3,58-3,65 (m, 1H), 4,21-4,28 (m, 1H), 7,52-7,62 (m, 3H) 7,93 (d, 2H), 8,07 (d, 2H), 8,17 (br s, 1H), 8,57 (s, 1H)

15 Ejemplo de Referencia 257: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(3-metilsulfonilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



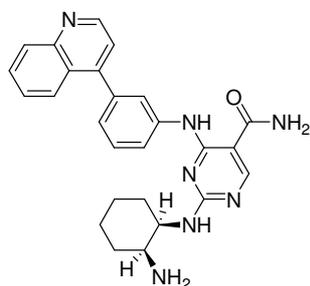
Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron ácido 3-metilsulfonilfenilborónico [373384-18-0] y 4-yodoanilina [CAS 540-37-4] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_3S$ como $(M+H)^+$ 481,4. UV $\lambda=$ 235, 308 nm.

20 Ejemplo de Referencia 259: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-metilsulfonilfenil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usaron ácido 4-metilsulfonilfenilborónico [149104-88-1] y 4-yodoanilina [CAS 540-37-4] como parejas de acoplamiento. MS experimental para $C_{24}H_{28}N_6O_3S$ como $(M+H)^+$ 481,3. UV $\lambda=239, 313$ nm.

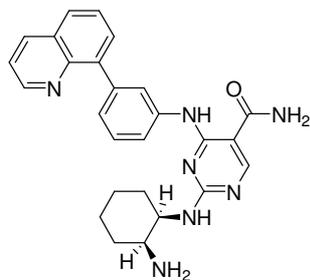
5 Ejemplo 260: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



La biarilánilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y 4-bromoquinolina [CAS 3964-04-3] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{26}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 454,4. UV $\lambda=239, 302$ nm.

10

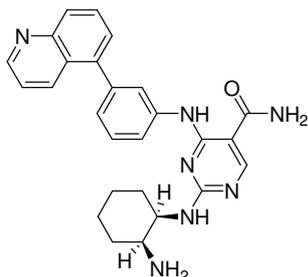
Ejemplo 261: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-8-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



La biarilánilina inicial se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232 usando 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina [CAS 210907-84-9] y 8-bromoquinolina [CAS 16567-18-3] como parejas de acoplamiento. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{26}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 454,4. UV $\lambda=240, 301$ nm.

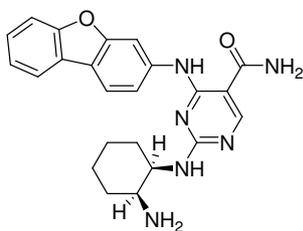
15

Ejemplo 262: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



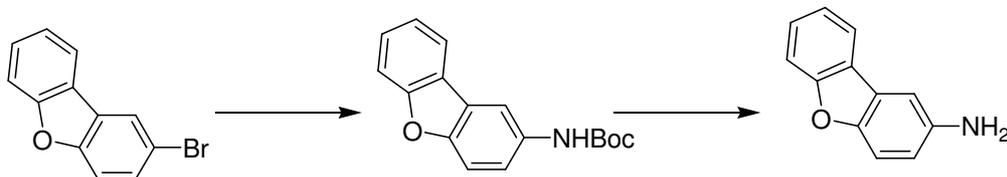
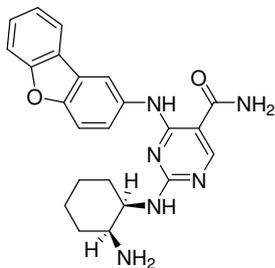
5 Este compuesto se preparó utilizando la misma química que la del Ejemplo de Referencia 232. Sin embargo, se usó ácido 5-quinolinilborónico [CAS 355386-94-6] en lugar de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico [CAS 122775-35-3]. La anilina resultante se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{26}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 454,5. UV $\lambda=241, 302$ nm.

Ejemplo de Referencia 264: 2-((1*R,2S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-dibenzofuranamino)pirimidin-5-carboxamida



10 Este compuesto se preparó haciendo reaccionar 3-aminodibenzofurano asequible en comercios [CAS 4106-66-5] con **300.4** y DIEA. Las posteriores reacciones utilizando la química mostrada en el Ejemplo de Referencia 232 dieron el compuesto del título. MS experimental para $C_{23}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 417,4. UV $\lambda=212, 236, 322$ nm.

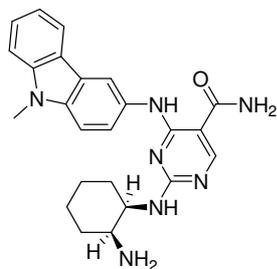
Ejemplo de Referencia 265: 2-((1*R,2S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(2-dibenzo furanamino)pirimidin-5-carboxamida



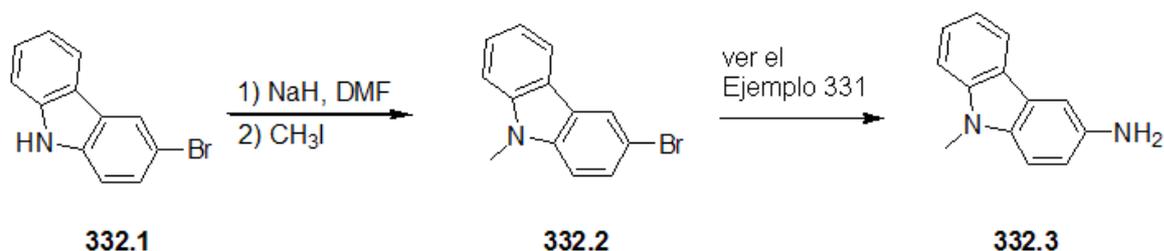
15 Se añadieron 2-bromodibenzofurano (**331.1**; 942 mg, 3,81 mmoles) [CAS 86-76-0], carbamato de terc-butilo (670 mg, 5,72 mmoles) [CAS 4248-19-5] y CS_2CO_3 a dioxano desgasificado. Se añadieron xantphos (330 mg, 0,51 mmoles) [CAS 161265-03-8] y $Pd_2(dba)_3$ (175 mg, 0,19 mmoles) [CAS 51364-51-3] posteriormente. La reacción se calentó bajo argón a $85^\circ C$ durante 18 h. La reacción se enfrió y se sometió a cromatografía flash para dar **331.2** que se disolvió en 4 N HCl/dioxano. La reacción se agitó durante 12 h y luego se concentró al vacío para obtener 331.3 (200 mg). Esta anilina se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 120 para obtener el compuesto

del título para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{23}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 417,4. UV $\lambda=210, 244, 289$ nm.

Ejemplo de Referencia 266: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(9-metil-9H-carbazol-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5



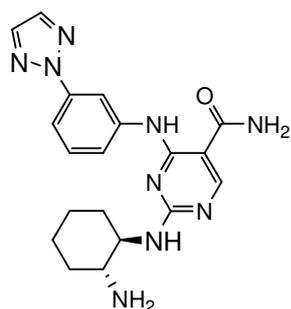
A 3-bromocarbazol (**332,1**) (530 mg, 2,15 mmoles) [CAS 1592-95-6] en DMF (~20 mL) a 0°C se añadió NaH en DMF (~5 mL). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y luego se calentó a 60°C durante 1 h. La solución se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y el yodometano se añadió gota a gota. La reacción se calentó a 12 h 60°C en un tubo sellado. La mezcla de reacción se enfrió se diluyó con EtOAc y se lavó con agua (4 veces), salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró para obtener **332.2** (550 mg).

10

El intermedio **332.2** se sometió a química mostrada en el Ejemplo de Referencia 265 para obtener **332.3**. Esta anilina se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 13 para obtener el compuesto del título para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{23}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 430,4. UV $\lambda=238, 296$ nm.

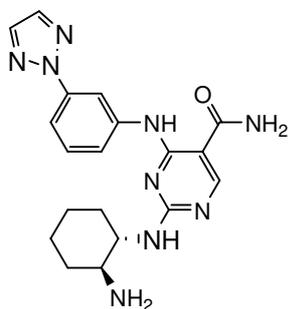
15

Ejemplo 267. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*R*,2*R*)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



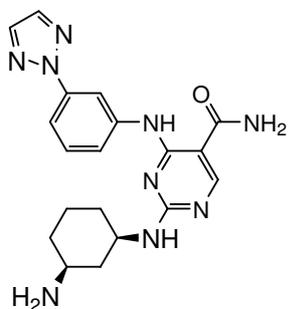
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 87 con (1*R*,2*R*)-ciclohexan-1,2-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=250$ nm.

Ejemplo 268. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*S*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



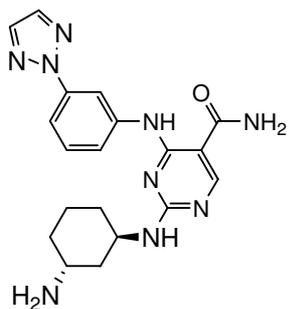
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 87 con (1*S*,2*S*)-ciclohexan-1,2-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=250$ nm.

- 5 Ejemplo 269. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*R*,3*S*)-3-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémico)



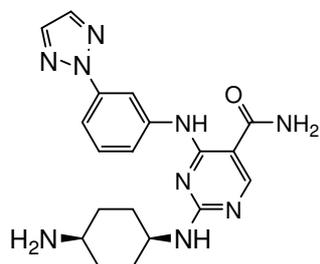
El compuesto racémico del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 87 con *cis*-ciclohexan-1,3-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=252$ nm.

- 10 Ejemplo 270. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*R*,3*R*)-3-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)



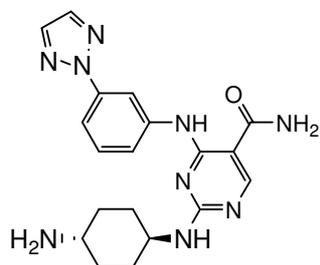
El compuesto racémico del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 87 con *trans*-ciclohexan-1,3-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=252$ nm.

- 15 Ejemplo 271. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*S*,4*S*)-4-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 87 con *cis*-ciclohexan-1,4-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=252$ nm.

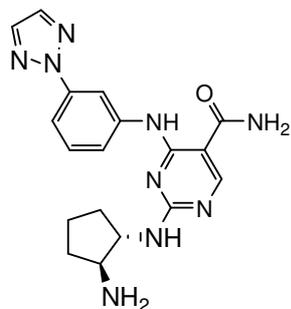
Ejemplo 272. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*R*,4*R*)-4-aminociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

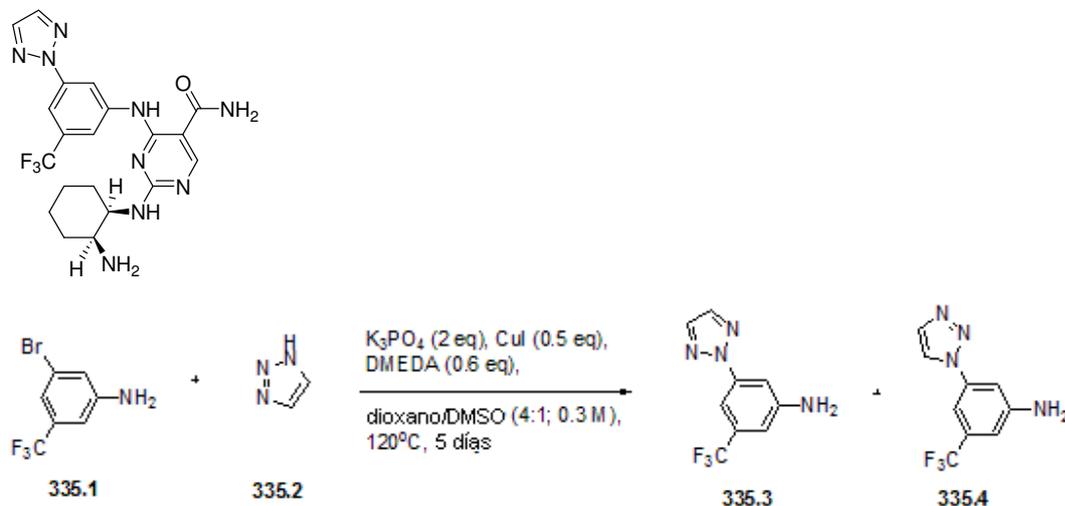
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417 con *trans*-ciclohexan-1,4-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=252$ nm.

10 Ejemplo 273. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1*S*,2*S*)-2-aminociclopentilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)



El compuesto racémico del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417 con *trans*-ciclopentan-1,2-diamina asequible en comercios y DIEA. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV $\lambda=251$ nm.

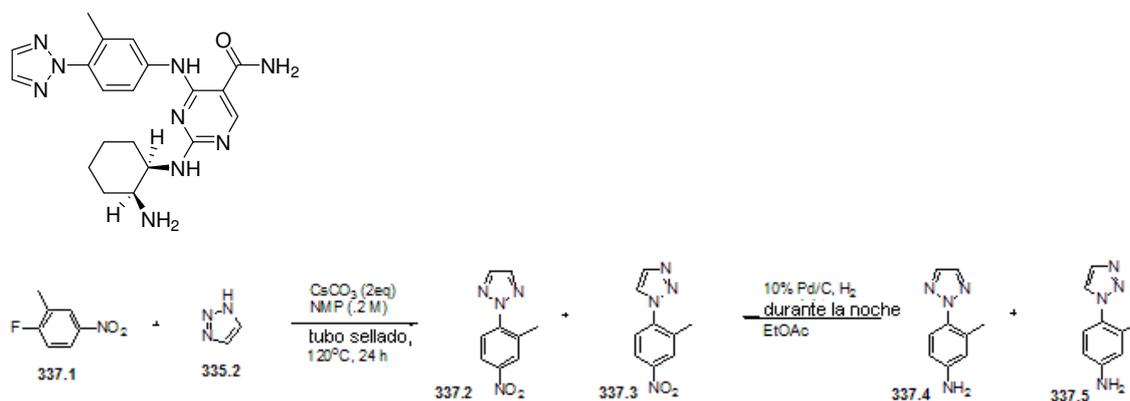
15 Ejemplo 274: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)-5-(trifluorometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 Una mezcla de 3-bromo-5-(trifluorometil)anilina **335.1** (1,08 g, 4,50 mmoles) [CAS 54962-75-3], 1H-1,2,3-triazol **335.2** (1,04 mL, 18,0 mmoles), K_3PO_4 (1,91 g, 9,00 mmoles), CuI (428 mg, 2,25 mmoles), N,N'-dimetiletilendiamina (0,29 mL, 2,70 mmoles) en 12 mL de dioxano y 3 mL de DMSO se agitó en un tubo sellado a 120°C durante 5 días. Se obtuvo una mezcla de **335.3** y **335.4** (en una relación de ~1,4:1). La mezcla se diluyó con EtOAc (250 mL), se lavó con agua, salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró al vacío. La mezcla cruda se sometió a flash cromatografía en columna para aislar **335.3**.

10 La anilina **335.3** se hizo reaccionar con **300.4** de acuerdo con las condiciones de reacción destacadas en el Ejemplo de Referencia 232. La química del esquema se completó para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{20}H_{22}F_3N_9O$ como $(M+H)^+$ 462,3. UV $\lambda=259$ nm. δ 1,50-2,00 (m, 8H), 3,61-3,68 (m, 1H), 4,80-4,88 (m, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,05 (s, 2H), 8,15 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 9,05 (s, 1H)

Ejemplo 275: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-4-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



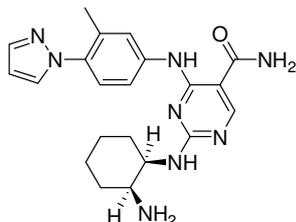
15 Una mezcla de 4-fluoro-3-metilitrobenzoceno **337.1** (819 mg, 5,28 mmoles) [CAS 455-88-9], 1H-1,2,3-triazol **335.2** (1,23 mL 21,1 mmoles) [CAS 288-36-8] y carbonato de cesio (3,44 g, 10,6 mmoles) en 25 mL de NMP seco se agitó en un tubo sellado a 120°C durante 24 h. Se enfrió, se diluyó con 400 mL de acetato de etilo y se lavó con agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2x200 mL). La fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre $MgSO_4$ y se filtró para obtener una solución de productos crudos **337.2** y **337.3** con una relación ~1:1. Esta solución se concentró hasta 100 mL y se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A ello, se cargó una suspensión bajo balón

20

de hidrógeno con agitación. La mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacío para obtener anilinas crudas **337.4 y 337.5**. MS experimental para $C_9H_{10}N_4$ como $(M+H)^+$ 175,1. Las dos anilinas se purificaron usando columna flash.

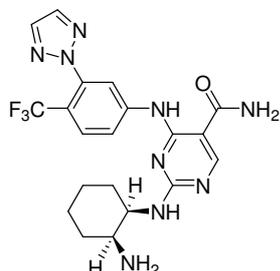
5 La anilina **337.4** se hizo reaccionar con **300.4** y se sometió a la química mostrada en el Ejemplo de Referencia 232 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV $\lambda=239, 296$ nm. δ 1,5-2,0 (m, 8H), 2,38 (s, 3H), 3,65-3,75 (m, 1H), 4,35-4,45 (m, 1H), 7,52-7,62 (m, 1H), 7,65-7,75 (m, 2H), 7,95 (s, 2H), 8,55 (s, 1H).

Ejemplo 276: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-4-(1*H*-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



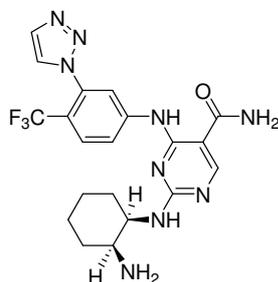
10 Este compuesto se preparó utilizando la química en el Ejemplo 275. Específicamente, se hicieron reaccionar pirazol [CAS 288-13-1] y **337.1** para formar 3-metil-4-(1*H*-pirazol-1-il)bencenammina. Esta anilina se hizo reaccionar luego con **300.4** de acuerdo con las condiciones destacadas en el Ejemplo de Referencia 232. La química del esquema se completó para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 407,5. UV $\lambda=238, 296$ nm. δ 1,5-2,0 (m, 8H), 2,25 (s, 3H), 3,60-3,70 (m, 1H), 4,35-4,45 (m, 1H), 6,55 (s, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,60-7,68 (m, 2H), 7,75 (br s, 1H), 7,82 (br s, 1H), 8,55 (s, 1H).

15 Ejemplo 277: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)-4-(trifluorometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



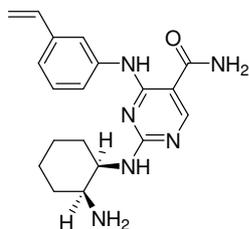
20 Este compuesto se preparó utilizando un procedimiento modificado de la química en el Ejemplo 275. Notablemente, se usó 2-Fluoro-4-nitro-1-trifluorometilbenceno [CAS 69411-67-2] en lugar de 2-Fluoro-1-metil-4-nitrobenceno [CAS 1427-07-2] y la reacción inicial de desplazamiento se agitó a 45°C durante 3 h. Después de la hidrogenación, la anilina resultante se hizo reaccionar con **300.4** de acuerdo con las condiciones destacadas en el Ejemplo de Referencia 232. La química del esquema se completó para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{18}F_3N_9O$ como $(M+H)^+$ 462,3. UV $\lambda= 245, 295$ nm. δ 1,50-1,95 (m, 8H), 3,58-3,64 (m, 1H), 4,43-4,51 (m, 1H), 7,60-7,66 (m, 1H), 7,90 (d, 1H), 8,04 (s, 2H), 8,52-8,58 (m, 1H), 8,62 (s, 1H).

25 Ejemplo 278: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-4-(trifluorometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



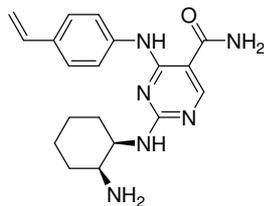
- 5 El triazol 1-sustituido precursor del compuesto del título se formó en la reacción descrita en el Ejemplo 277. Después de la hidrogenación, la anilina resultante se hizo reaccionar con **300.4** de acuerdo con las condiciones destacadas en el Ejemplo de Referencia 232. La química del esquema se completó para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{18}F_3N_9O$ como $(M+H)^+$ 462,3. UV $\lambda=$ 245, 295 nm. δ 1,45-1,85 (m, 8H), 3,58-3,64 (m, 1H), 4,38-4,46 (m, 1H), 7,63-7,71 (m, 1H), 7,89-7,97 (m, 2H), 8,34 (br s, 1H), 8,49-8,56 (m, 1H), 8,62 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 279: 2-((1*R*,2*S*)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-vinilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



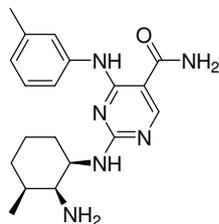
- 10 La 3-vinilanilina asequible en comercios se hizo reaccionar con **72.3** y se sometió a la posterior química mostrada en el Ejemplo 87 para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 353,4. UV $\lambda=$ 244 nm.

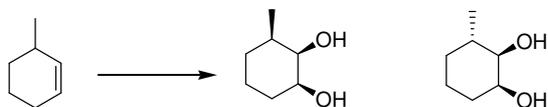
Ejemplo de Referencia 280: 2-(cis-2-aminociclohexilamino)-4-(4-vinilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se sintetizó utilizando la química en el Ejemplo 11. Sin embargo, en lugar de anilina **72.4**, se usó 4-vinilanilina [CAS 1520-21-4]. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 353,4. UV $\lambda=$ 236, 310 nm.

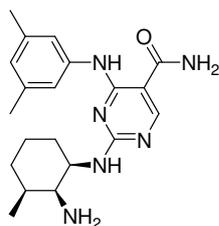
- 15 Ejemplo de Referencia 281: 2-(cis-2-amino-cis-3-metilciclohexilamino)-4-(3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida





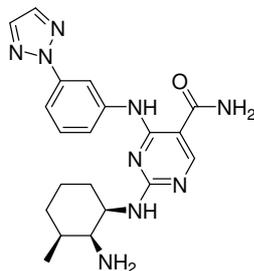
Este compuesto se sintetizó utilizando la misma química mostrada en el Ejemplo 302. MS experimental para $C_{19}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 355,4. UV $\lambda=242, 289$ nm. δ 1,00 (d, 3H), 1,20-1,95 (m, 7H), 2,40 (s, 3H), 3,18 (s, 3H), 3,72-3,80 (m, 1H), 4,02-4,10 (m, 1H), 7,07-7,14 (m, 1H) 7,25-7,35 (m, 2H), 7,41-7,48 (m, 1H), 8,54 (s, 1H).

5 Ejemplo de Referencia 282: 2-(cis-2-amino-cis-3-metilciclohexilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



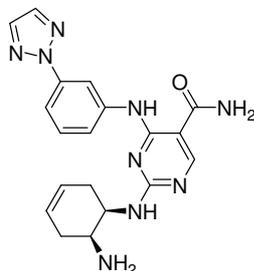
Este compuesto se sintetizó utilizando la misma química mostrada en el Ejemplo de Referencia 303. MS experimental para $C_{20}H_{28}N_6O$ como $(M+H)^+$ 369,4. UV $\lambda=240, 290$ nm. δ 1,00 (d, 3H), 1,20-1,95 (m, 7H), 2,38 (s, 6H), 3,70-3,78 (m, 1H), 4,04-4,12 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,19-7,25 (m, 2H), 8,50 (s, 1H).

10 Ejemplo de Referencia 283: 2-(cis-2-amino-cis-3-metilciclohexilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il) fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se sintetizó utilizando la misma química mostrada en el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 408,4. UV $\lambda=250$ nm. δ 0,75-0,85 (m, 3H), 1,20-1,95 (m, 7H), 3,62-3,70 (m, 1H), 4,20-4,26 (m, 1H), 7,38-7,42 (m, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,89-7,94 (m, 1H), 7,97 (s, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,66-8,70 (m, 1H).

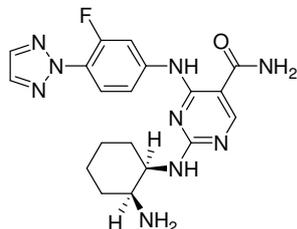
15 Ejemplo de Referencia 284: 2-(cis-6-aminociclohex-3-enilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Este compuesto se sintetizó utilizando la misma química mostrada en el Ejemplo 298.

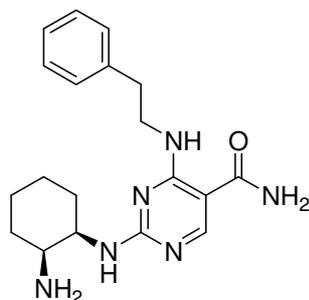
20 MS experimental para $C_{19}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 392,3. UV $\lambda=250$ nm.

Ejemplo 285: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



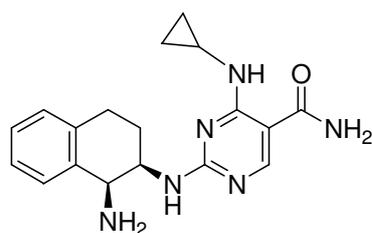
5 La 3-fluoro-4-(2H-1,2,3-triazol)anilina intermedia se preparó haciendo reaccionar 1H-1,2,3-triazol y 4-bromo-3-fluoroanilina [CAS 656-65-5] de acuerdo con el Ejemplo 92. Este intermedio se hizo reaccionar luego con **300.4** de acuerdo con las condiciones de reacción destacadas en el Ejemplo de Referencia 232. La química del esquema se completó para obtener el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}FN_9O$ como $(M+H)^+$ 412,4. UV $\lambda=242, 305$ nm. δ 1,5-2,0 (m, 8H), 3,75-3,85 (m, 1H), 4,40-4,50 (m, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,75-7,85 (m, 1H), 7,95-8,1 (m, 3H), 8,60 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 286: 2-((1SR, 2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(fenetilamino)pirimidin-5-carboxamida



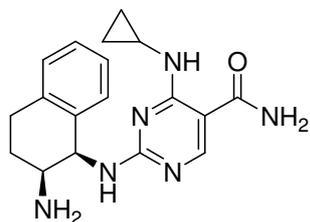
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo 9. MS experimental para $C_{19}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 355,4. UV: $\lambda = 232,2$.

Ejemplo de Referencia 287 2-((1S,2R)-1-amino-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-ilamino)-4-(ciclopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



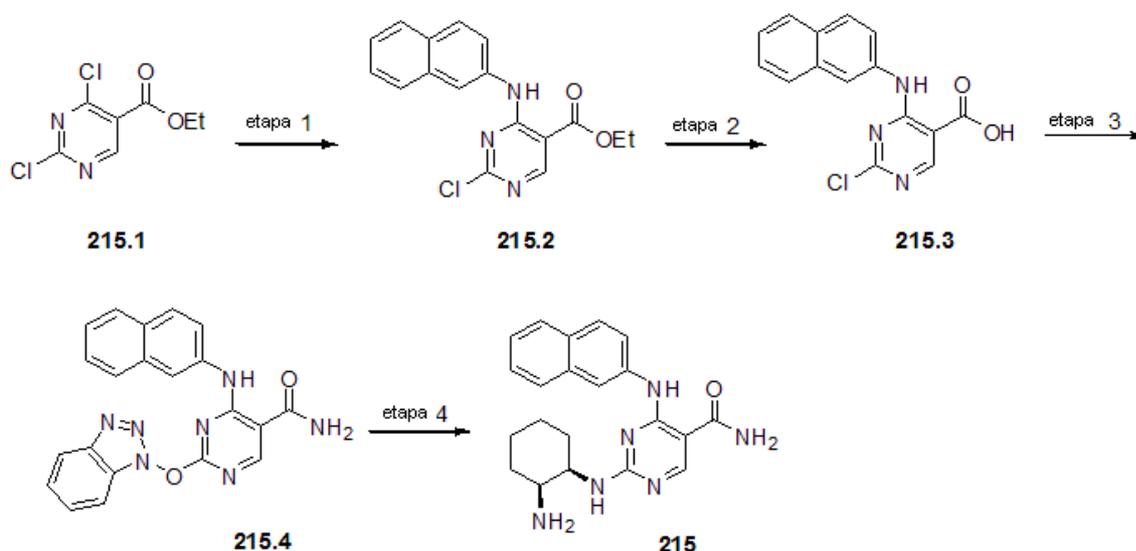
15 El compuesto anterior se preparó usando un procedimiento similar al descrito. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 339,2.

Ejemplo de Referencia 288. 2-((1R,2S)-2-amino-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ilamino)-4-(ciclopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando un procedimiento similar al descrito. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 339,2.

Ejemplo de Referencia 289. 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

Etapa 1: A una solución de Dicloropirimidina **215.1** (700 mg, 3,16 mmoles) en acetonitrilo (8 mL) se añadió una suspensión de 6-amino-naftileno (3,16 mmoles), diisopropilamina (0,61 mL, 3,5 mmoles) en acetonitrilo (10 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **215.2**.

10

Etapa 2: El éster etílico **215.2** (960 mg, 2,81 mmoles) se diluyó con 1,4-dioxano (7,5 mL) y etanol (2 mL), seguido por hidróxido de litio acuoso (1,0 M, 2,8 mL, 2,8 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente hasta convertir todo el material de partida en el ácido carboxílico. La reacción luego se diluyó con y se acidificó con HCl 1 N (3,0 mL). La suspensión resultante luego se filtró, se lavó con agua y se secó dando 870 mg del ácido carboxílico **215.3**.

15

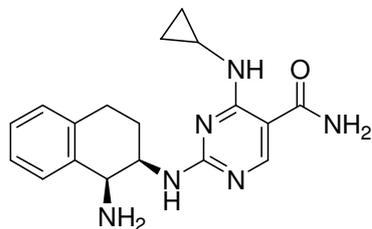
Etapa 3: Al ácido carboxílico **215.3** (870 mg, 2,76 mmoles), EDC (792 mg, 4,14 mmoles), HOBt (560 mg, 4,14 mmoles) en N,N-dimetilformamida (14 mL) se añadió amoníaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 14 mL, 6,9 mmoles) y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción luego se diluyó con agua (100 mL) y el precipitado se recogió por filtración para dar como resultado el producto deseado **215.4**.

20

Etapa 4: Una mezcla de éter de benzotriazolilo **215.4** (75 mg, 0,182 mmoles), cis-1,2-diaminociclohexano (25 mg, 0,218 mmoles), DIPEA (0,1 mL, 0,546 mmoles) en isopropanol (3 mL) se calentó en microondas (Emry's Optimizer) a 130°C durante 20 min.

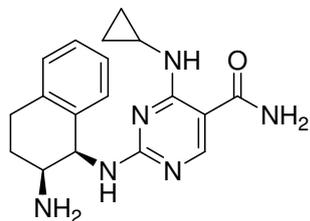
La mezcla de reacción luego se diluyó con agua y acetonitrilo y se purificó directamente por HPLC preparativa para dar como resultado el producto deseado, **215**, después de liofilización. MS experimental para $C_{21}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 377,3.

Ejemplo de Referencia 290 2-((1S,2R)-1-amino-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-ilamino)-4-(ciclopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



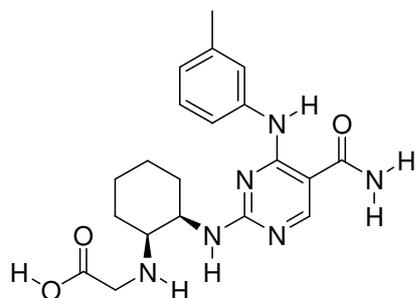
5 El compuesto anterior se preparó usando un procedimiento similar al descrito en la presente. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 339,2.

Ejemplo de Referencia 291. 2-((1R,2S)-2-amino-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-ilamino)-4-(ciclopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



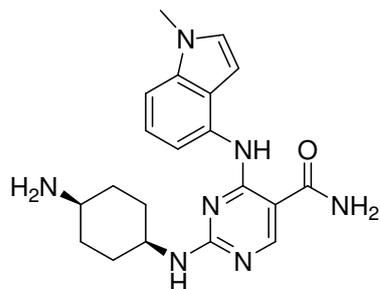
10 El compuesto anterior se preparó usando un procedimiento similar al descrito. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 339,2.

Ejemplo de Referencia 293: ácido 2-((1S, 2R)-2-(5-carbamoyl-4-(m-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)ciclohexilamino)acético



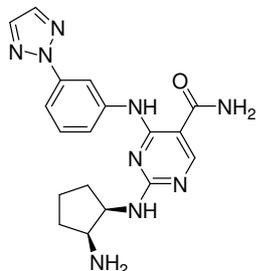
El compuesto anterior se preparó usando un procedimiento similar al descrito en la presente. MS experimental para $C_{20}H_{26}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 399,2. UV: $\lambda = 240,5, 212,2, 287,8$.

15 Ejemplo de Referencia 294: 2-(cis-4-aminociclohexilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo 271. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV: $\lambda = 245,4$.

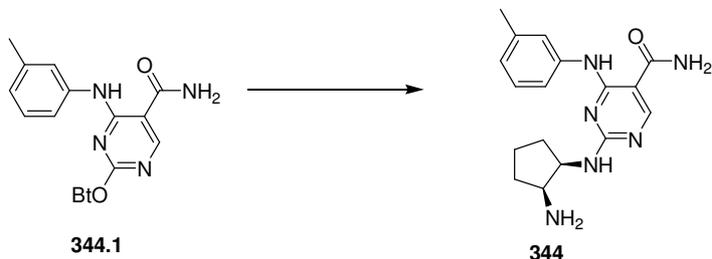
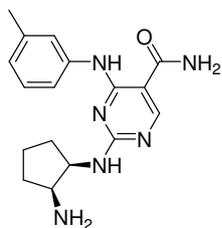
Ejemplo 295: 2-(cis-2-aminociclopentilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 5 Este compuesto se sintetizó utilizando la misma química mostrada en el Ejemplo 87.

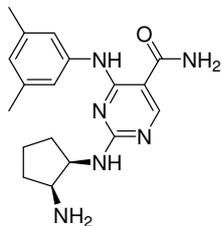
MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV $\lambda=249$ nm.

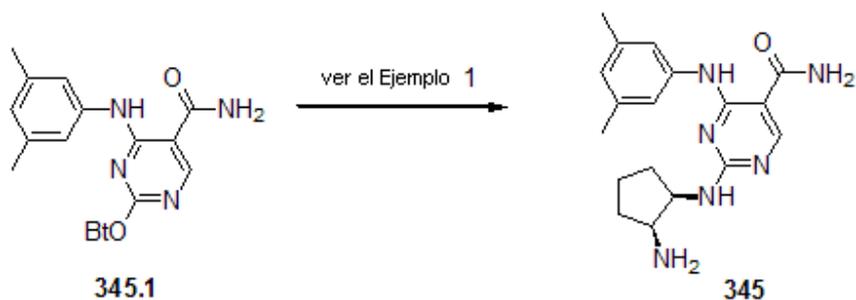
Ejemplo de Referencia 296: 2-(cis-2-aminociclopentilamino)-4-(3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 10 El compuesto **344** se sintetizó utilizando una química similar a la encontrada en el Ejemplo de Referencia 1. El benzotriazol que contenía el precursor **344.1** se hizo reaccionar con cis-diamina **343.4** para dar el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 327,4. UV $\lambda=240, 287$ nm.

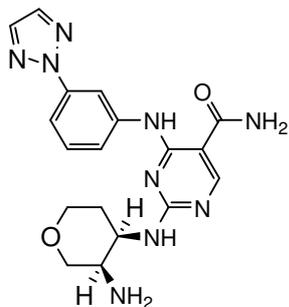
Ejemplo de Referencia 297: 2-(cis-2-aminociclopentilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



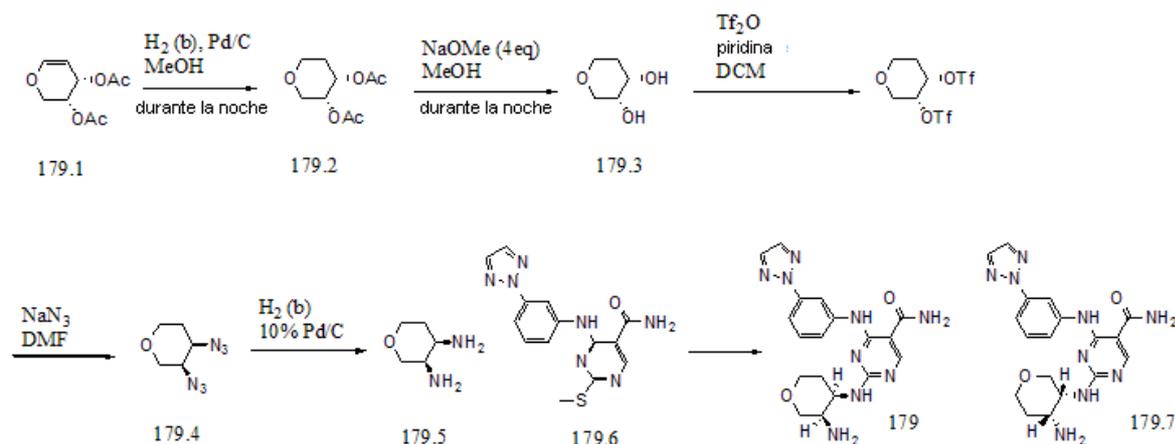


El compuesto **345** se sintetizó utilizando una química similar a la encontrada en el Ejemplo de Referencia 1. El benzotrizol que contenía el precursor **345.1** se hizo reaccionar con cis-diamina **343.4** para dar el compuesto del título. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 341,4. UV $\lambda=217, 239, 290$ nm.

- 5 Ejemplo 298. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((3R,4R)-3-aminotetrahydro-2H-piran-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



- 10 Etapa 1: El 3,4-Di-O-acetil-D-arabinal [CAS 3945-17-3] (179,1) se preparó por medio de un método de la bibliografía estándar o se adquirió como reactivo químico asequible en comercios. Este (5,0 g, 25 mmoles) se disolvió en 100 mL de metanol. A ello se añadió 1,0 gramo de Pd/C al 10% y la mezcla se agitó bajo un balón de hidrógeno durante la noche para dar el compuesto 179.2. La mezcla se filtró para eliminar Pd/C. El filtrado se trató con metóxido de sodio (5,4 g, 100 mmoles) a temperatura ambiente durante la noche. Se neutralizó con HCl 6 N (20 mL) en baño de hielo. La mezcla se concentró al vacío hasta sequedad. El residuo se trató con 500 mL de acetato de etilo y se agitó vigorosamente a 45^oC durante 30 min. La suspensión se filtró usando un embudo Buchner de grado fino. El filtrado se concentró al vacío y se bombeó durante para obtener diol 179,3 (2,82 g, 95%).
- 15

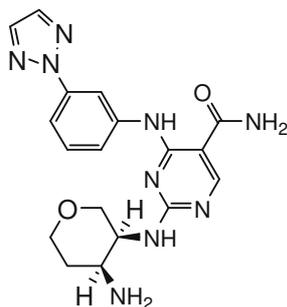
5 Etapa 2: El diol 179.3 (205 mg, 1,74 mmoles) se disolvió en 10 mL de DCM seca. A ello se añadieron piridina (0,35 mL, 4,34 mmoles) y en el baño de hielo Tf_2O (0,63 mL, 3,74 mmoles). La reacción se controló con TLC (tinción: molibdato de amonio (12,5 g), sulfato de Ce(IV) (5 g), 10% H_2SO_4 500 mL; se calentó usando calor fuerte proveniente de una pistola de calor después de sumergir). La reacción se agitó durante 15 min. A la mezcla se añadieron 24 mL de DMF y 3 mL de HMPA. Luego, se añadió azida sódica (2,28 g, 35 mmoles). La mezcla se agitó luego a $50^\circ C$ durante 3 h (la reacción se completó en 1,5 h por TLC). La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se filtró, se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó, se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar diazida 179.4 (220 mg, 75%).

10 Etapa 3: la diazida 179.4 (220 mg, 1,3 mmoles) se disolvió en 40 mL de acetato de etilo. Se trató con Pd/C al 10% bajo balón de H_2 durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacío para dar diamina cruda 179.5.

10 Etapa 4: El intermedio 179.6 se preparó usando anilina 156.6 (Ejemplo 66) usando la misma química mostrada en el Ejemplo de Referencia 1. MS experimental para $C_{14}H_{13}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 328,2.

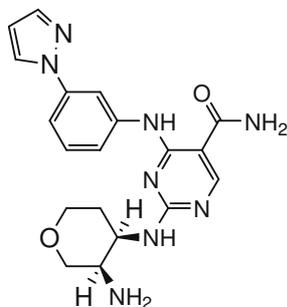
15 Etapa 5: La metiltiopirimidina 179.6 (105 mg, 0,32 mmoles) se disolvió en 2 mL de NMP y se trató con MCPBA (102 mg, 0,38 mmoles) a temperatura ambiente durante 45 min. A ello se añadieron DIEA (226 μL , 1,3 mmoles) y diamina 179.5 preparados en la Etapa 3. La mezcla se agitó durante 2 h a $90^\circ C$ durante 2 horas. Dos productos principales experimentales eran 179 y 179.7 a 1,58 min y 1,55 min por HPLC analítica en fase inversa (5 min de corrida) en la relación de 1,7:1 a favor de 179. El compuesto 179 se aisló de la mezcla usando HPLC preparativa en fase inversa. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 396,3. UV $\lambda=249$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,66 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,93 (s, 2H), 7,82 (m, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,27 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 2,00 (m, 1H), 1,86 (m, 1H) ppm.

20 Ejemplo 299. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((3S,4S)-4-aminotetrahidro-2H-piran-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



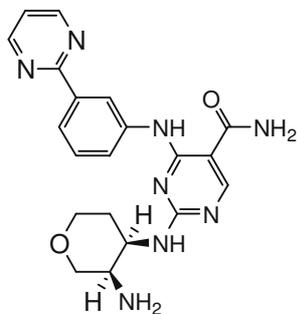
25 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298 usando 3,4-Di-O-acetil-L-arabinal [CAS 3945-18-4], asequible en comercios, para reemplazar 3,4-Di-O-acetil-D-arabinal [CAS 3945-17-3]. El compuesto del título era el producto menor aislado de la mezcla de reacción en la etapa final. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 396,3. UV $\lambda=250$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,73 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,09 (s, 2H), 7,90 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,92 (m, 1H) ppm.

30 Ejemplo 300. 4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



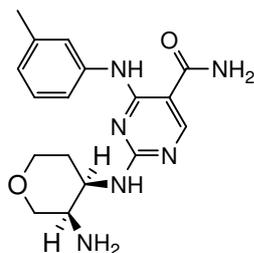
Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 395,4. UV $\lambda=246$ nm.

Ejemplo 301. 2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



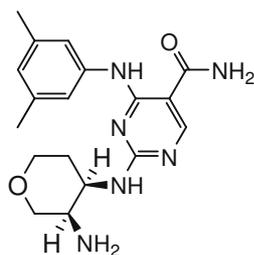
- 5 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{20}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 407,4. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 302. 2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



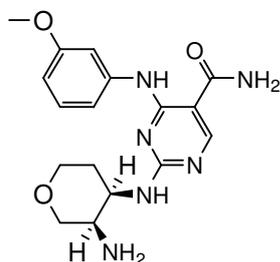
- 10 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 343,3. UV $\lambda=240, 288$ nm.

Ejemplo de Referencia 303. 2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



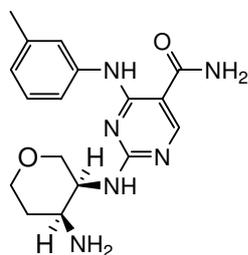
- 15 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 357,4. UV $\lambda=240, 290$ nm.

Ejemplo de Referencia 304. 2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-4-(3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



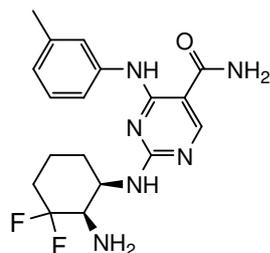
5 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 298. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 359,4. UV $\lambda=240, 283$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,46 (s, 1H), 7,29 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 6,99 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,62 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,82 (m, 1H) ppm.

Ejemplo de Referencia 305. 2-((3S,4S)-4-aminotetrahydro-2H-piran-3-ylamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida

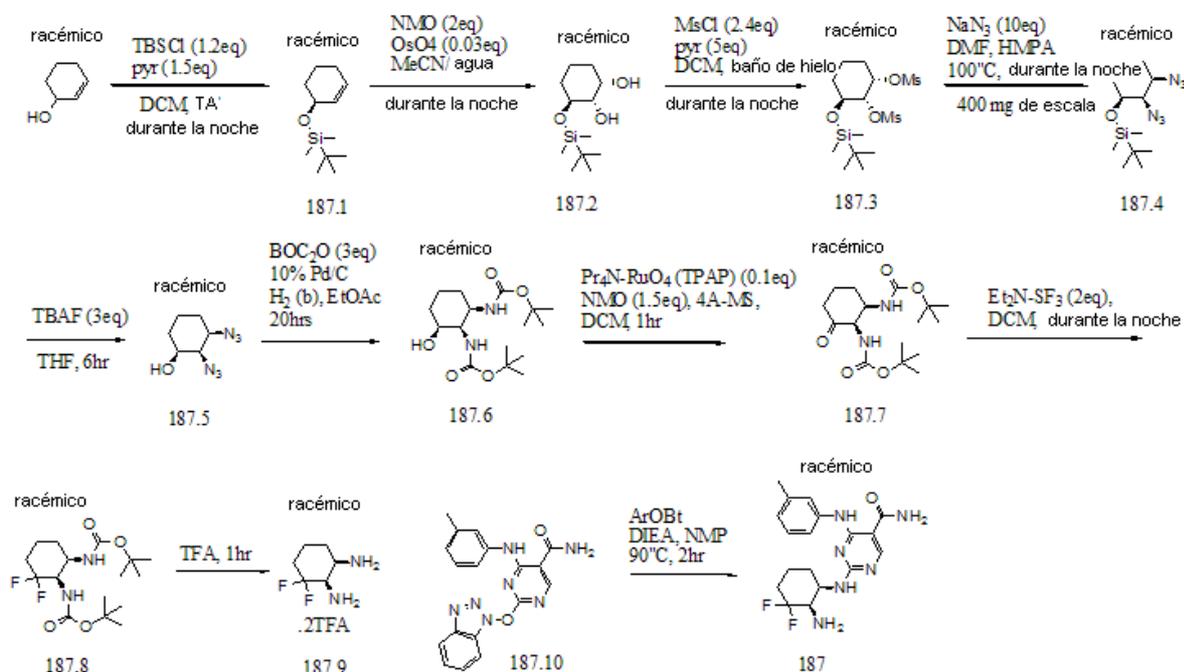


10 Este compuesto se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo 299. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 343,3. UV $\lambda=241, 287$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,53 (s, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,73-3,68 (m, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,05 (m, 1H), 1,87 (m, 1H) ppm.

Ejemplo de Referencia 306. 2-((1R,2R)-2-amino-3,3-difluorociclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)



15 Esquema:



5 Etapa 1: El 2-ciclohexen-1-ol (5,0 mL, 50 mmoles) se disolvió en 100 mL de DCM. A ello se añadieron piridina (12,2 mL, 150 mmoles) y TBDMSCl (12,1 g, 80 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró al vacío para eliminar la piridina. El residuo se extrajo en 300 mL de acetato de etilo y 200 mL de agua. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó, se concentró y se purificó usando columna flash de sílice usando 15% acetato de etilo en hexano. El compuesto 187.1 se obtuvo así en forma de un aceite (10,1 g, 94%).

10 Etapa 2: El compuesto 187.1 (10,1 g, 47,7 mmoles) se disolvió en 70 mL de acetonitrilo. A ello se añadió NMO (solución acuosa al 50%, 22,5 mL, 95,4 mmoles) y OsO₄ (solución acuosa al 4%, 9,1 mL, 1,43 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Se diluyó con 600 mL de acetato de etilo, se lavó con salmuera, bicarbonato de sodio saturado, se secó, se concentró y se purificó por columna flash de sílice usando 60% acetato de etilo en hexano para dar el compuesto 187.2 (10,8 g, 92%) en forma de un aceite.

15 Etapa 3: El diol 187.2 (10,8 g, 43,9 mmoles) se disolvió en 200 mL de DCM. En baño de hielo, se añadieron piridina (17,7 mL, 219 mmoles) y gota a gota MsCl (8,2 mL, 105 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se diluyó con 500 mL de DCM, se lavó con salmuera x3, se secó, se concentró, se purificó usando columna flash de sílice con 45% acetato de etilo en hexano para dar el compuesto 187.3 (16,8 g, 95%) en forma de un aceite.

Etapa 4: El compuesto 187.3 (15,7 g, 39 mmoles) se disolvió en 80 mL de DMF y 20 mL de HMPA. A ello se añadió azida sódica (16,5 g, 253 mmoles). La mezcla se agitó a 100°C durante la noche (24 h). La mezcla se diluyó con 800 mL de acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera x2, se secó, se concentró y se purificó por columna flash de sílice usando 10% acetato de etilo en hexano para aislar diazida 187.4 (3,16 g, 27%) en forma de un aceite.

20 Etapa 5: El compuesto 187.4 (1,21 g, 4,1 mmoles) se disolvió en 60 mL de THF seco. A ello se añadió TBAF (1,0 M en THF, 8,2 mL, 8,2 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 h. Se neutralizó con metanol, se concentró al vacío y se sometió a columna flash de sílice usando 40-50% acetato de etilo en hexano para aislar el compuesto 187.5 (854 mg, 99%) en forma de un aceite.

25 Etapa 6: El compuesto 187.5 (450 mg, 2,5 mmoles) se disolvió en 100 mL de acetato de etilo. Pd/C al 10% (500 mg) se añadió. La mezcla se agitó bajo balón de H₂ durante 20 h. Se filtró a través de celite. El celite se lavó bien usando acetato de etilo. El filtrado se concentró y se sometió a columna flash de sílice para aislar el compuesto 187.6 (650 mg, 79%) en forma de sólido. MS experimental para C₁₆H₃₀N₂O₅ como (M+H)⁺ 331,3.

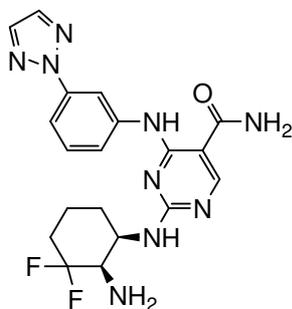
Etapa 7: El compuesto 187.6 (72 mg, 0,22 mmoles) se disolvió en 10 mL de DCM seca. A ello se añadieron tamiz molecular 4A (activado) (100 mg), NMO (sólido, 39 mg, 0,33 mmoles) y por último TPAP (8 mg, 0,022 mmoles). La

mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se concentró y se cargó directamente en una columna flash de sílice para aislar el compuesto 187.7 (77 mg, 100%) en forma de sólido. MS experimental para $C_{16}H_{28}N_2O_5$ como $(M+H)^+$ 329,3.

5 Etapa 8: La cetona 187.7 (134 mg, 0,41 mmoles) se disolvió en 10 mL de DCM. A ello se añadió DAST (110 μ L, 0,82 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se cargó directamente en una columna flash de sílice para aislar el compuesto 187.8 (MS experimental para $C_{16}H_{28}F_2N_2O_4$ como $(M+H)^+$ 351,2) usando 20% de acetato de etilo en hexano. Luego se trató con TFA puro a temperatura ambiente durante 1 h y se concentró hasta sequedad para obtener el compuesto 187.9. MS experimental para $C_6H_{12}F_2N_2$ como $(M+H)^+$ 151,2.

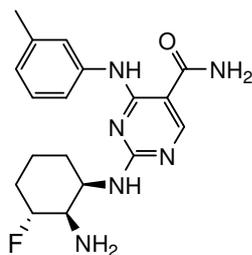
10 Etapa 9: El compuesto 187.10 (72 mg, 0,2 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió DIEA (350 μ L, 2 mmoles) y todo el compuesto crudo 187.9 preparado en la Etapa 8. La mezcla se agitó a 90^oC durante 2 h y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título 187 (racémico). MS experimental para $C_{18}H_{22}F_2N_6O$ como $(M+H)^+$ 377,2. UV $\lambda=239, 292$ nm. RMN (CD_3OD): δ 8,51 (s, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 4,61 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,8-2,1 (m, 6H) ppm.

15 Ejemplo de Referencia 307. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2R)-2-amino-3,3-difluorociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)

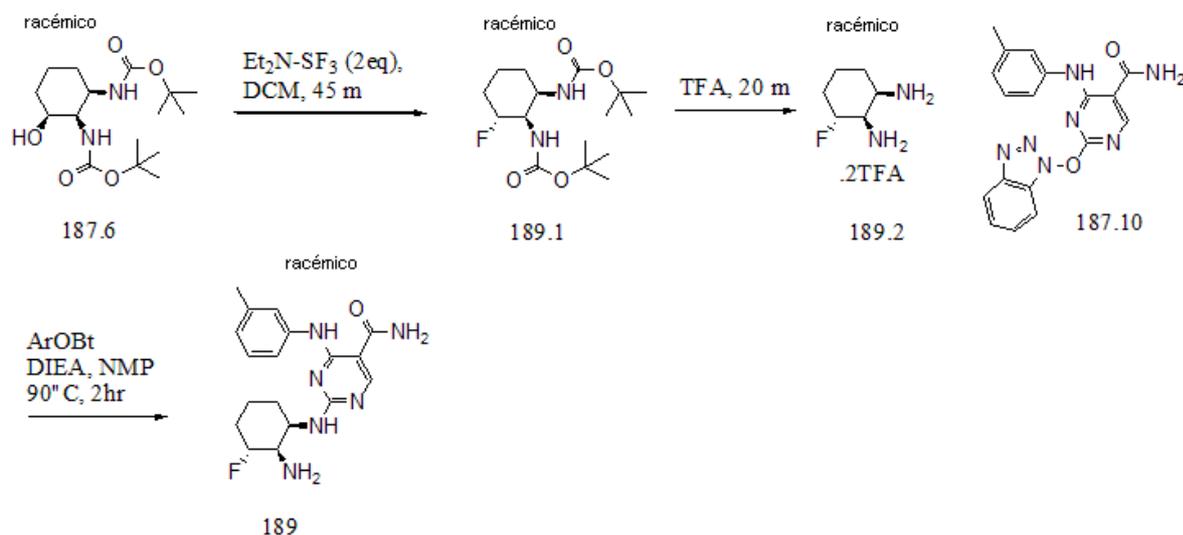


El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 306. MS experimental para $C_{19}H_{21}F_2N_9O$ como $(M+H)^+$ 430,4. UV $\lambda=250$ nm.

20 Ejemplo de Referencia 308. 2-((1R,2R,3R)-2-amino-3-fluorociclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)



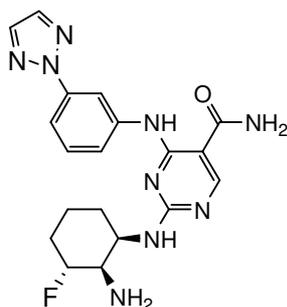
Esquema.



5 Etapa 1: El compuesto 187.6 (descrito en el Ejemplo de Referencia 306) (350 mg, 1,06 mmoles) se disolvió en 20 mL de DCM. A -78°C, a ello se añadió una solución de DAST (280 µL, 2,12 mmoles) en 10 mL de DCM gota a gota. La mezcla se agitó en el baño frío durante 45 min, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se concentró y se sometió a columna flash para aislar el compuesto 189.1 con 30% de rendimiento. MS experimental para C₁₆H₂₉FN₂O₄ como (M+H)⁺ 333,2. Se trató con 3 mL de TFA puro durante 20 min. La mezcla se concentró hasta sequedad para obtener el compuesto crudo 189.2. MS experimental para C₆H₁₃FN₂ como (M+H)⁺ 133,1.

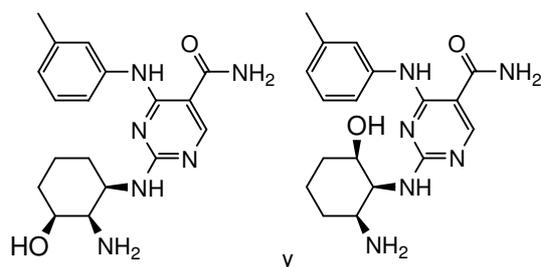
10 Etapa 2: El compuesto 187.10 (108 mg, 0,3 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió DIEA (260 µL, 1,5 mmoles) y todo el compuesto crudo 189.2 preparado en la Etapa 1. La mezcla se agitó a 90°C durante 2 h y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título 189 (racémico). MS experimental para C₁₈H₂₃FN₆O como (M+H)⁺ 359,2. UV λ=240, 292 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,51 (s, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 4,83-4,78 (m, 2H), 3,65 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,8-2,2 (m, 6H) ppm.

Ejemplo 309. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2R,3R)-2-amino-3-fluorociclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)

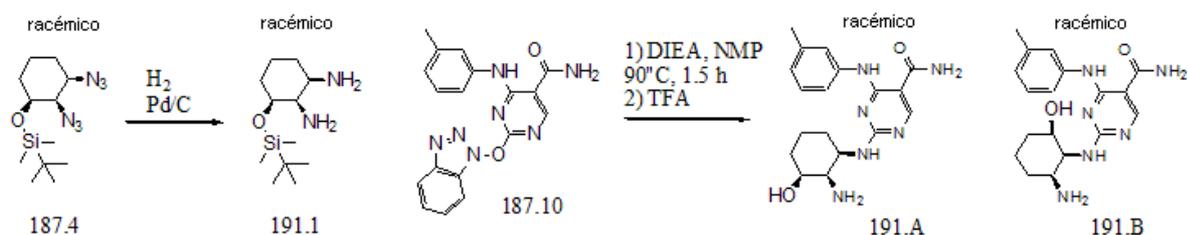


15 El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 308. MS experimental para C₁₉H₂₂FN₉O como (M+H)⁺ 412,4. UV λ=251 nm.

20 Ejemplo de Referencia 310. 2-((1R,2R,3S)-2-amino-3-hidroxiciclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 191A) y 2-((1S,2S,6R)-2-amino-6-hidroxiciclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 191B)



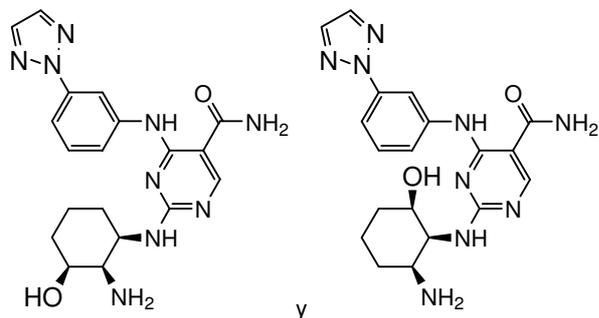
Esquema.



5 Etapa 1: El compuesto 187.4 (descrito en el Ejemplo de Referencia 306) (180 mg, 0,60 mmoles) se disolvió en 50 mL de acetato de etilo. A ello se añadió Pd/C al 10% (100 mg) y la mezcla se agitó durante la noche bajo un balón de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de celite, que luego se lavó bien con metanol. El filtrado se concentró al vacío para obtener el compuesto 191.1 con rendimiento cuantitativo en forma de un aceite. MS experimental para $C_{12}H_{28}N_2OSi$ como $(M+H)^+$ 245,3.

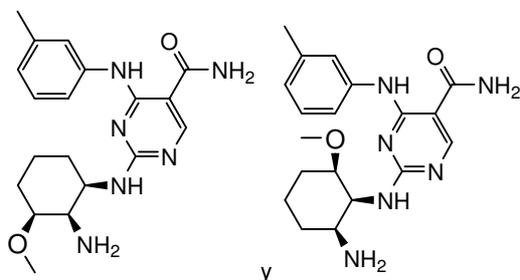
10 Etapa 2: El compuesto 191.1 de la Etapa 1 se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadieron DIEA (313 μ L, 1,8 mmoles) y el compuesto 187.10 (108 mg, 0,3 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 90 min. A ello se añadieron luego 10 mL de metanol, 10 mL de TFA y 3 mL de agua. La mezcla se agitó a 80°C durante 2 h. Se concentró al vacío y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar los compuestos racémicos del título 191.A y 191.B. La relación de 191.A (menos polar) y 191.B era de 7:1 por HPLC analítica. El compuesto 191.A: MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 357,3. UV $\lambda=243, 294$ nm. El compuesto 191.B: MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 357,3. UV $\lambda=243, 290$ nm.

Ejemplo 311. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2R,3S)-2-amino-3-hidroxiciclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 192.A) y 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1S,2S,6R)-2-amino-6-hidroxiciclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 192.B)

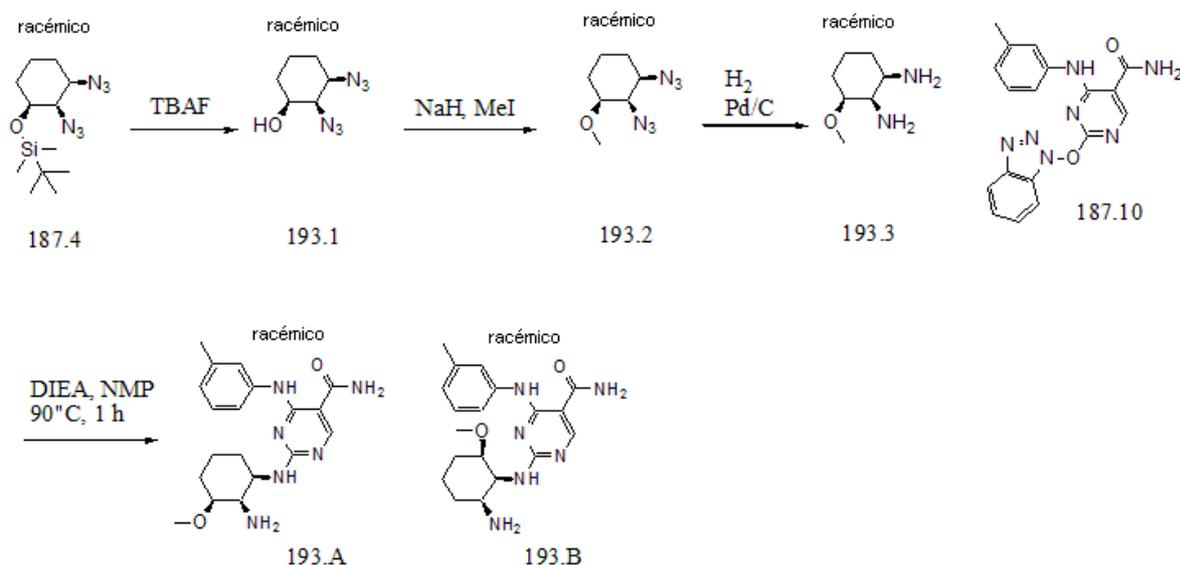


20 Los dos compuestos racémicos del título se prepararon usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 310. La relación de 192.A (menos polar) y 192.B era de 1,6:1 por HPLC analítica. El compuesto 192.A: MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV $\lambda=250$ nm. El compuesto 192.B: MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 312. 2-((1R,2R,3S)-2-amino-3-metoxiciclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 193.A) y 2-((1S,2S,6R)-2-amino-6-metoxiciclohexilamino)-4-(in-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica, 193.B)



5 Esquema.



10

Etapa 1: El compuesto 187.4 (descrito en el Ejemplo de Referencia 306) (1,21 g, 4,1 mmoles) se disolvió en 60 mL de THF seco. A ello se añadió TBAF (1,0 M en THF, 8,2 mL, 8,2 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se concentró y se cargó en una columna flash de sílice para aislar el compuesto 193.1 (854 mg, 99%) en forma de sólido.

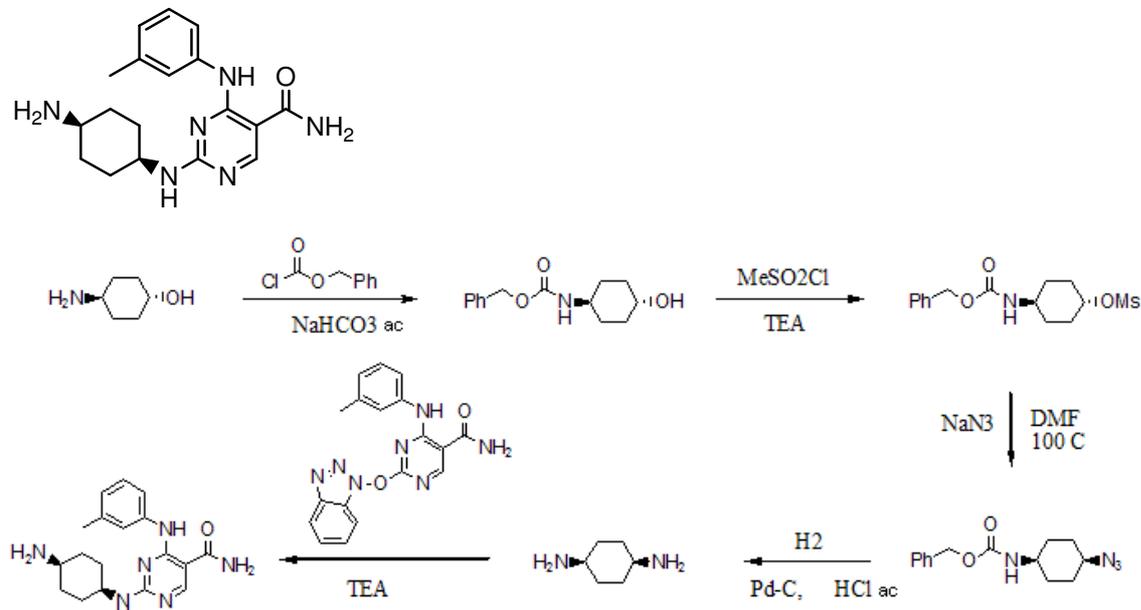
15

Etapa 2: El compuesto 193.1 (124 mg, 0,68 mmoles) se disolvió en 10 mL de THF seco. A ello se añadieron NaH (60% en peso en aceite mineral, 55 mg, 1,36 mmoles) y 5 min más tarde, yodometano (0,42 mL, 6,8 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 h. Se concentró al vacío y se cargó en una columna flash de sílice para aislar el compuesto 193.2 (115 mg, 85%) en forma de un aceite.

20

Etapa 4: Todo el compuesto 193.3 preparado en la Etapa 3 se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadieron el compuesto 187.10 (180 mg, 0,5 mmoles) y DIEA (0,26 mL, 1,5 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 1 h para dar una mezcla de 193.A (menos polar) y 193.B en la relación de 6:1. Los dos compuestos racémicos del título se aislaron usando HPLC preparativa en fase inversa. El compuesto 193.A: MS experimental para C₁₉H₂₆N₆O₂ como (M+H)⁺ 371,3. UV λ=247, 295 nm. El compuesto 193.B: MS experimental para C₁₉H₂₆N₆O₂ como (M+H)⁺ 371,3. UV λ=242, 289 nm.

Ejemplo de Referencia 313. 2-((1s,4s)-4-aminociclohexilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 A una mezcla de trans-4-aminociclohexanol (2,07 g, 13,6 mmoles) y NaHCO_3 (3,50 g, 41,7 mmoles) en H_2O (20 mL) a temperatura ambiente, se añadió una solución de cloroformato de bencilo (1,92 mL, 13,6 mmoles) en dioxano (15 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. El precipitado blanco se recogió en forma de (1R,4R)-4-hidroxiciclohexilcarbamato de bencilo (3,37 g).

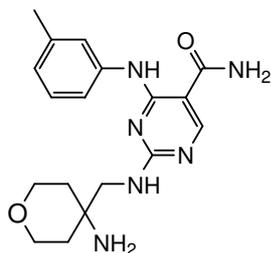
10 A una suspensión de (1R,4R)-4-hidroxiciclohexilcarbamato de bencilo (1,14 g, 4,58 mmoles) y trietilamina (1,30 mL, 9,34 mmoles) en CH_2Cl_2 (15 mL) a temperatura ambiente, se añadió cloruro de metansulfonilo (0,425 mL, 5,49 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se añadieron más cloruro de metanosulfonilo (0,425 mL, 5,49 mmoles) y trietilamina (1,00 mL). Se continuó agitando durante 48 h. La solución de reacción se lavó con 5% de NaHCO_3 , luego con HCl 1 N. La fase orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar (1R,4R)-4-(benciloxicarbonil)ciclohexil metanosulfonato en forma de un sólido (1,13 g).

15 Una mezcla de (1R,4R)-4-(benciloxicarbonil)ciclohexil metanosulfonato (1,13 g, 3,46 mmoles) y NaN_3 (0,674 g, 10,4 mmoles) en DMF (10 mL) se agitó a 100 C durante 20 h. Se añadieron agua y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró al vacío para dar (1s,4s)-4-azidociclohexilcarbamato de bencilo (0,819 g).

20 Una mezcla de (1s,4s)-4-azidociclohexilcarbamato de bencilo (400 mg, 1,46 mmoles) y Pd-C (10%, 70 mg) en MeOH (20 mL) (que contenía 5 gotas de HCl 6 N) se hidrogenó bajo balón de hidrógeno durante 20 h. Se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío para dar (1s,4s)-ciclohexan-1,4-diamina (223 mg).

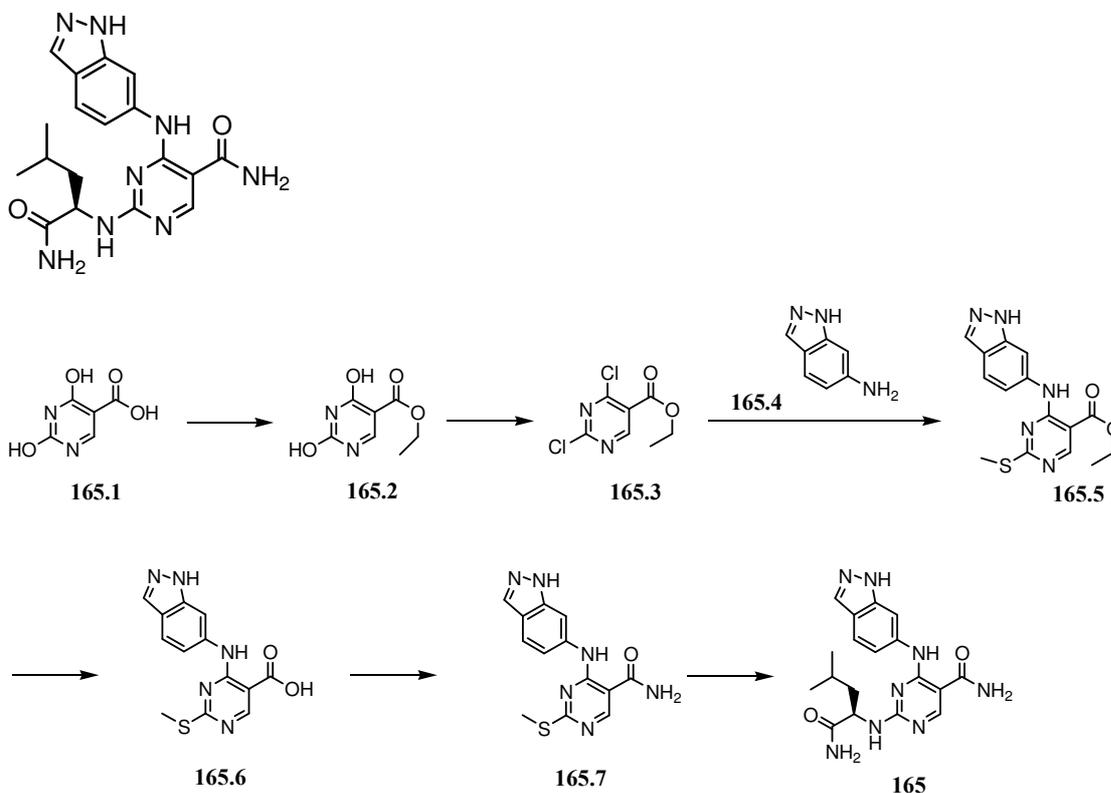
A una solución de (1s,4s)-ciclohexan-1,4-diamina (60 mg, 0,40 mmoles) y TEA (0,208 mL, 1,50 mmoles) en DMF (2 mL) y MeOH (1 mL), se añadió el compuesto 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (65 mg, 0,18 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar el compuesto del título (30 mg). MS 341,2 (M+H); UV 247,8, 298,8.

25 Ejemplo de Referencia 314. 2-((4-aminotetrahidro-2H-piran-4-il)metilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



5 El compuesto 187.10 (tal como se muestra en el Ejemplo de Referencia 306) (70 mg, 0,19 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadieron 4-(aminometil)tetrahidro-2H-piran-4-amina (78 mg, 0,38 mmoles) y DIEA (0,20 mL, 1,14 mmoles) asequible en comercios. La mezcla se agitó a 90°C durante 2 h. De esta mezcla se aisló el compuesto del título usando HPLC preparativa en fase inversa. MS experimental para C₁₈H₂₄N₆O₂ como (M+H)⁺ 357,3. UV λ=240 nm.

Ejemplo de Referencia 315. (R)-4-(1H-indazol-6-ilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 Etapa 1: A una solución agitada de ácido carboxílico **165.1** (85 g, 540 mmoles) en cloruro de tionilo (425 mL) se añadió piridina (8,5 mL, 0,11 mmoles) lentamente. La reacción se agitó a 75°C durante lo cual se concentró y se secó al vacío en un polvo amarillo claro. Este sólido amarillo lentamente se diluyó con 750 mL de etanol y se calentó a reflujo. Al día siguiente, se determinó que la reacción estaba completa por medio de HPLC y luego se enfrió en un baño de hielo y el sólido se filtró y se lavó con éter dietílico para dar como resultado éster etílico **165.2** en forma de un polvo blanquecino
15 (91 g, 87% para dos etapas). MS experimental para C₇H₈N₂O₄ como (M+H)⁺ 185,0.

Etapa 2: El éster **165.2** (22 g, 120 mmoles) se disolvió en oxiclorigo de fósforo (60 mL, 600 mmoles) y la mezcla se trató con N,N-dietilaniлина (27 mL, 167 mmoles) y la mezcla se calentó hasta 105°C hasta que la reacción se determinó completa por HPLC. Luego se enfrió hasta temperatura ambiente y lentamente se añadió a 1 L de hielo picado dando como resultado la formación de un precipitado beige que se recogió por filtración y se secó al vacío para dar como

resultado dicloruro **165.3** en forma de un polvo amarillo claro (22,5 g, 85%). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9,13 (s, 1H), 4,37 (q, 2H), 1,32 (t, 3H).

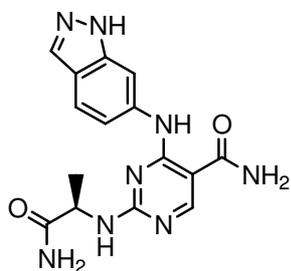
5 Etapa 3: La dicloropirimidina **165.3** (1,04 g, 4,7 mmoles) se disolvió en NMP (30 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadieron 6-aminoindazol **165.4** (690 mg, 5,2 mmoles) y luego gota a gota etildiisopropilamina (DIEA, 1,64 mL, 9,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 40 minutos y a ello se añadió tiometóxido de sodio (660 mg, 9,4 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces y se concentró al vacío para dar el compuesto crudo **165.5** en forma de un sólido marrón claro en rendimiento cuantitativo. MS experimental para $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 330,1.

10 Etapa 4: El éster etílico **165.5** (4,7 mmoles) se disolvió en 60 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (236 mg, 5,6 mmoles) y 20 mL de agua. La mezcla se agitó durante la noche y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 2. La mezcla se concentró al vacío para eliminar THF. El sólido blanco se trituró y se aisló usando un embudo de Büchner. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **165.6** (1,14 g, 81%) en forma de un sólido blanco. MS experimental para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 302,1.

15 Etapa 5: El ácido carboxílico **165.6** (1,14 g, 3,8 mmoles) se disolvió en 30 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreto de EDC (1,09 g, 5,7 mmoles) e hidrato de HOBt (770 mg, 5,7 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 22 mL, 11,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera cuatro veces. La fase orgánica luego se secó sobre MgSO_4 y se concentró al vacío para obtener el compuesto **165.7** en forma de un sólido amarillo claro (820 mg, 72%). MS experimental para $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{OS}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 301,1.

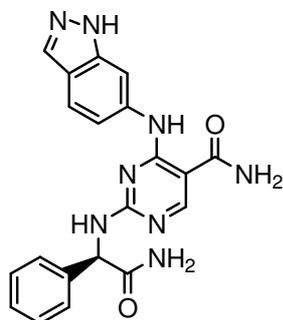
20 Etapa 6: El compuesto **165.7** (40 mg, 0,13 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (65% puro, 53 mg, 0,18 mmoles). Se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. A ello se añadieron luego H-D-Leu- NH_2 HCl (108 mg, 0,65 mmoles) y DIEA (230 μL , 1,3 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos a en un baño a 120°C. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto del título **165**. MS experimental para $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}_2$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 383,2. UV $\lambda=246, 303$ nm.

Ejemplo de Referencia 316. (R)-4-(1H-indazol-6-ilamino)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



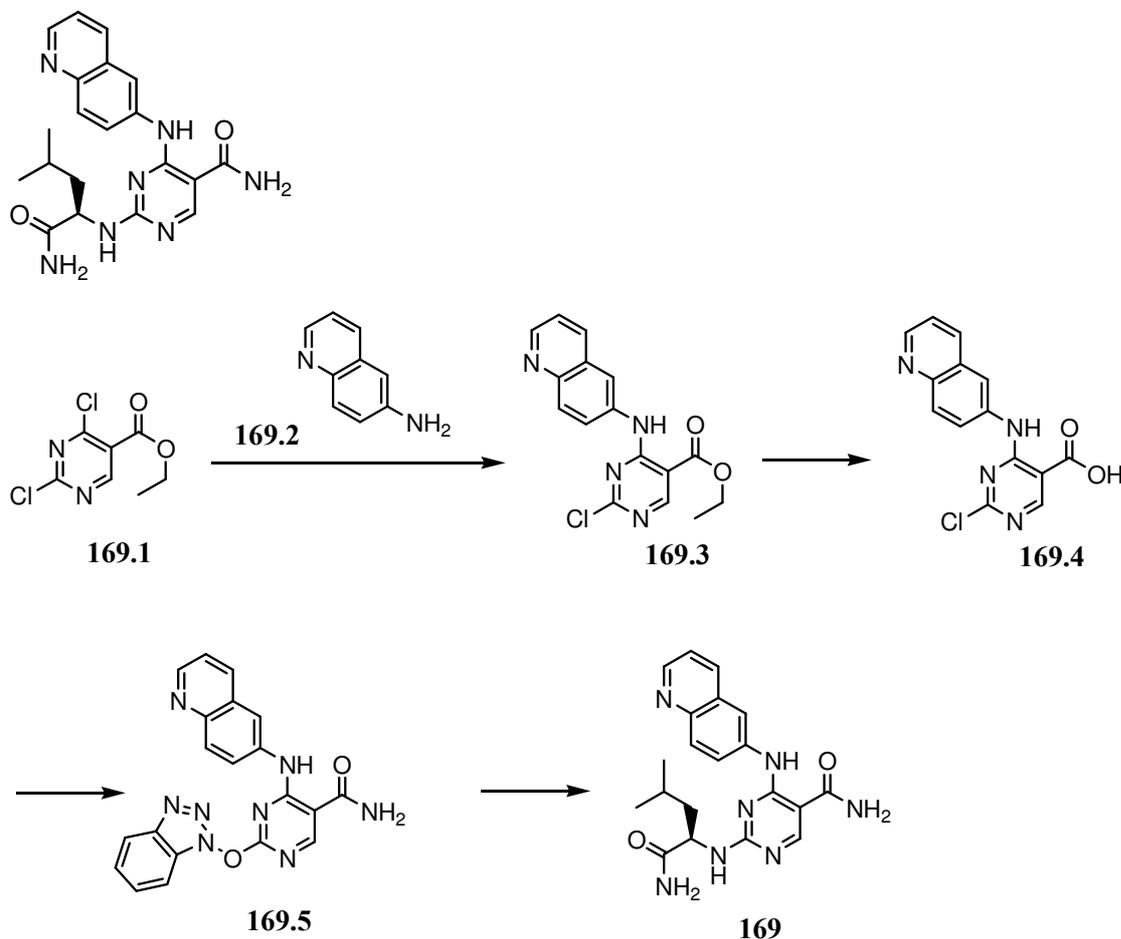
30 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala- NH_2 HCl para reemplazar H-D-Leu- NH_2 HCl. MS experimental para $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_8\text{O}_2$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 341,2. UV $\lambda=245, 302$ nm.

Ejemplo de Referencia 317. (R)-4-(1H-indazol-6-ilamino)-2-(2-amino-2-oxo-1-feniletilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₀H₁₈N₈O₂ como (M+H)⁺ 403,2. UV λ =249, 298 nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 318. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 10 Etapa 1: La dicloropirimidina **169.1** (500 mg, 2,3 mmoles) se disolvió en NMP (20 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadieron 6-aminoquinolina **169.2** (390 mg, 2,7 mmoles) y luego gota a gota etildiisopropilamina (DIEA, 0,72 mL, 4,1 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces y se

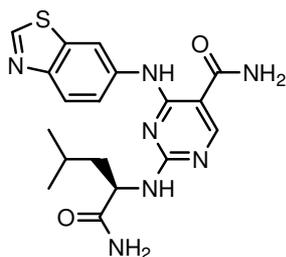
concentró al vacío para dar el compuesto crudo **169.3** en forma de un sólido marrón claro en rendimiento cuantitativo. MS experimental para $C_{16}H_{13}ClN_4O_2$ como $(M+H)^+$ 329,1.

5 Etapa 2: El éster etílico **169.3** (2,3 mmoles) se disolvió en 30 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (193 mg, 4,6 mmoles) y 6 mL de agua. La mezcla se agitó durante 7 horas y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 5. La mezcla se concentró al vacío para eliminar THF y se extrajo con acetato de etilo 5 veces. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron y se concentraron al vacío para dar ácido crudo **169.4**. MS experimental para $C_{14}H_9ClN_4O_2$ como $(M+H)^+$ 301,1.

10 Etapa 3: El ácido carboxílico **169.4** (220 mg, 0,73 mmoles) se disolvió en 18 mL de NMP. A ello se añadieron hidrocloreuro de EDC (210 mg, 1,1 mmoles) e hidrato de HOBt (150 mg, 1,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 7,3 mL, 3,65 mmoles). La mezcla se agitó durante 2,5 horas. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera tres veces. La fase orgánica luego se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para obtener el compuesto **169.5** en forma de un sólido (180 mg, 62%). MS experimental para $C_{20}H_{14}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 399,1.

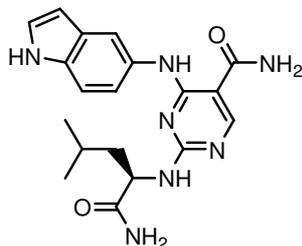
15 Etapa 6: El compuesto **169.5** (71 mg, 0,18 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadieron H-D-Leu- NH_2 HCl (150 mg, 0,90 mmoles) y DIEA (0,31 mL, 1,8 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en un baño a $120^\circ C$. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto racémico del título **169**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 394,2. UV $\lambda=241, 283$ nm.

20 Ejemplo de Referencia 319. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



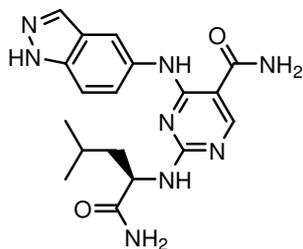
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 6-aminobenzotiofeno para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 400,2. UV $\lambda=243, 303$ nm.

25 Ejemplo de Referencia 320. (R)-4-(1H-indol-5-ilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



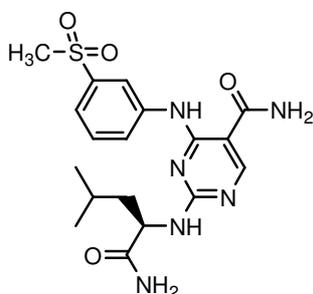
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 6-aminoindol para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 382,2. UV $\lambda=245$ nm.

30 Ejemplo de Referencia 321. (R)-4-(1H-indazol-5-ilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 5-aminoindazol para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383.2. UV $\lambda=247, 301$ nm.

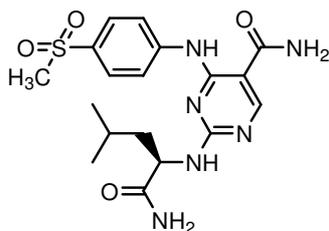
- 5 Ejemplo de Referencia 322. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-(metilsulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(metilsulfonil)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_4S$ como $(M+H)^+$ 421,2. UV $\lambda=249, 285$ nm.

10

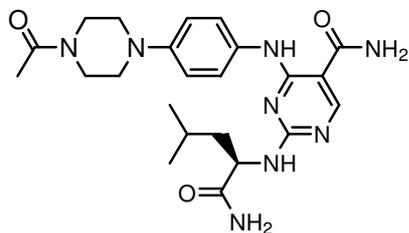
- Ejemplo de Referencia 323. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(metilsulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

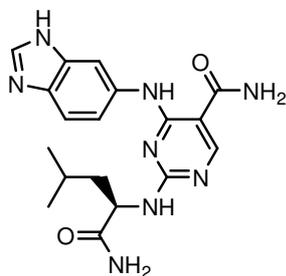
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(metilsulfonil)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_4S$ como $(M+H)^+$ 421,2. UV $\lambda=250, 300$ nm.

- Ejemplo de Referencia 324. (R)-4-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



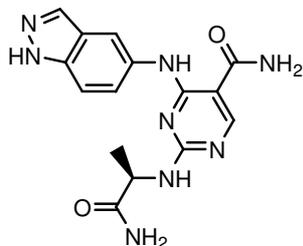
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 1-(4-(4-aminofenil)piperazin-1-il)etanona para reemplazar 6-aminoquinolina **169,2**. MS experimental para $C_{23}H_{32}N_8O_3$ como $(M+H)^+$ 469,3. UV $\lambda=243, 296$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 325. ((R)-4-(1H-benzo[d]imidazol-6-ilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



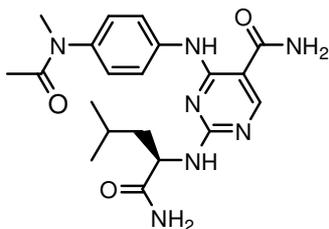
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 1H-benzo[d]imidazol-6-amina para reemplazar 6-aminoquinolina **169,2**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383,2. UV $\lambda=244, 297$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 327. (R)-4-(1H-indazol-5-ilamino)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



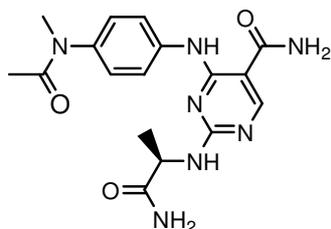
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para $C_{15}H_{16}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 341,2. UV $\lambda=245, 299$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 328. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(N-metilacetamido)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



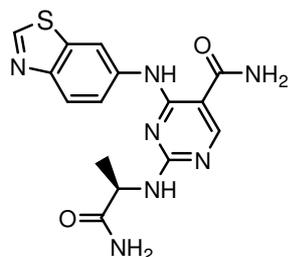
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con N-(4-aminofenil)-N-metilacetamida para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 414,2. UV $\lambda=245, 296$ nm.

5 Ejemplo de Referencia 329. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(4-(N-metilacetamido)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



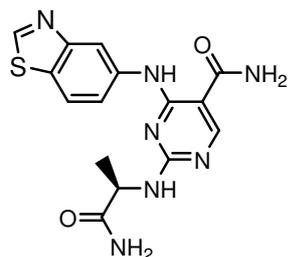
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 372,2. UV $\lambda=244, 295$ nm.

10 Ejemplo de Referencia 330. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



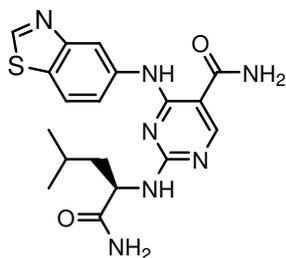
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para $C_{15}H_{15}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 358,1. UV $\lambda=244, 303$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,22 (s, 1H), 8,51 (m, 2H), 8,07 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,71 (d, J=8,8 Hz, 1H), 4,44 (m, 1H), 1,55 (d, J=6,8 Hz, 3H) ppm.

15 Ejemplo de Referencia 331. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



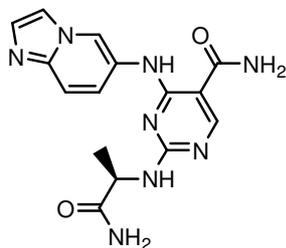
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 5-aminobenzotiofeno para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{15}H_{15}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 358,1. UV $\lambda=249, 292$ nm. RMN (CD_3OD): δ 9,34 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,10 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,59 (d, J=8,8 Hz, 1H), 4,64 (m, 1H), 1,55 (d, J=7,2 Hz, 3H) ppm.

20 Ejemplo de Referencia 332. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 5-aminobenzotiofeno para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 400,2. UV $\lambda=247, 295$ nm.

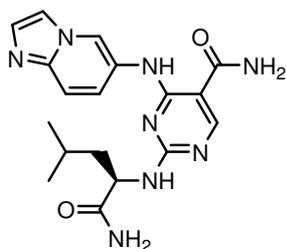
- 5 Ejemplo de Referencia 333. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(imidazo[1,2-a]piridin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con imidazo[1,2-a]piridin-6-amina para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{15}H_{16}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 341,2. UV $\lambda=250$ nm.

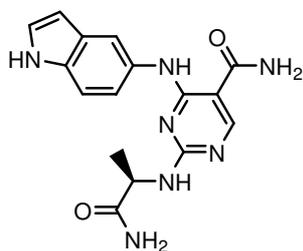
10

Ejemplo de Referencia 334. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(imidazo[1,2-a]piridin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



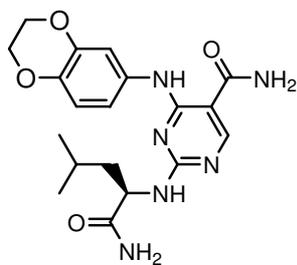
- 15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con imidazo[1,2-a]piridin-6-amina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383,2. UV $\lambda=252$ nm.

Ejemplo de Referencia 335. (R)-4-(1H-indol-5-ilamino)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



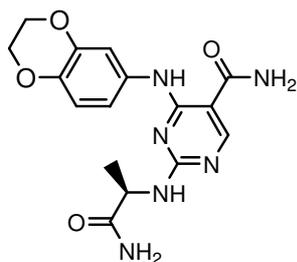
- 5 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para C₁₆H₁₇N₇O₂ como (M+H)⁺ 340,2. UV λ=224 nm. RMN (CD₃OD): δ 8,38 (s, 1H), 7,84 (m, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,26 (m, 2H), 6,51 (s, 1H), 4,44 (m, 1H), 1,50 (d, J=7,6 Hz, 3H) ppm. 8,82 (s, 1H), 8,74 (m, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,10 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,87 (d, J=8,4 Hz, 1H), 4,54 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 1,99-1,62 (m, 8H) ppm.

Ejemplo de Referencia 336. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



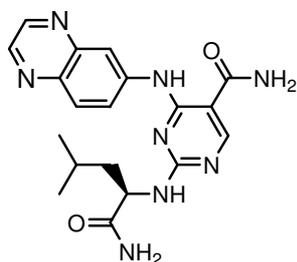
- 10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-amina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para C₁₉H₂₄N₆O₄ como (M+H)⁺ 401,2. UV λ=243. 310 nm.

Ejemplo de Referencia 337. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



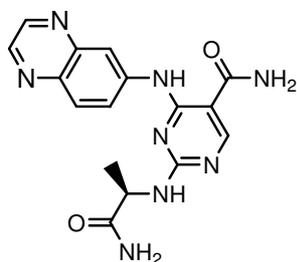
- 15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para C₁₆H₁₈N₆O₄ como (M+H)⁺ 359,2. UV λ=243. 312 nm.

- 20 Ejemplo de Referencia 338. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(quinoxalin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



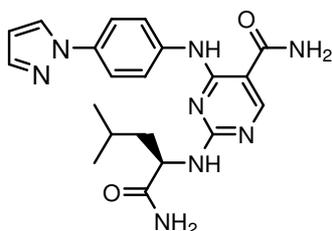
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con quinoxalin-6-amina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 395,2. UV $\lambda=243$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 339. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(quinoxalin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



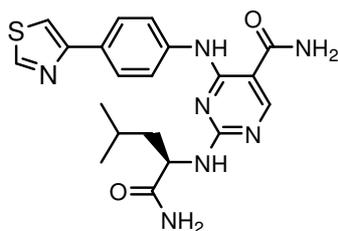
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Leu-NH₂ HCl. MS experimental para $C_{16}H_{16}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 353,2. UV $\lambda=242$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 340. (R)-4-(4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



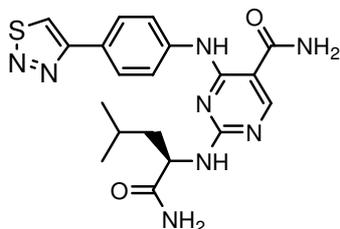
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(1H-pirazol-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 409,2. UV $\lambda=241, 308$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 341. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



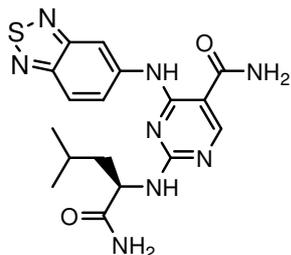
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(tiazol-4-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 426,2. UV $\lambda=240, 314$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 342. (R)-4-(4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



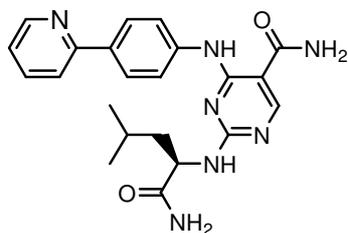
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 427,2. UV $\lambda=233, 311$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 343. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(benzo[c][1,2,5]tiadiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



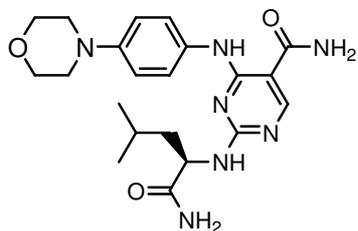
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con benzo[c][1,2,5]tiadiazol-5-amina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{17}H_{20}N_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 400,2. UV $\lambda=240$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 344. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(piridin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



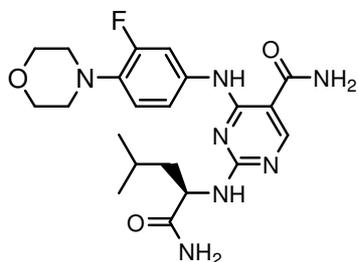
- 20 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(piridin-2-il)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 420,2. UV $\lambda=244, 314$ nm.

Ejemplo de Referencia 345. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-morfolinoanilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{21}H_{29}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 428,2. UV $\lambda=244, 294$ nm.

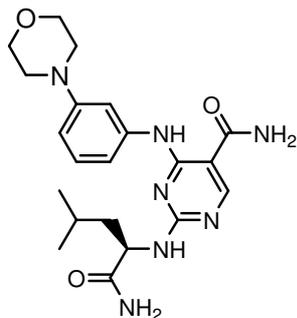
- 5 Ejemplo de Referencia 346. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-fluoro-4-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-fluoro-4-morfolinoanilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{21}H_{28}FN_7O_3$ como $(M+H)^+$ 446,2. UV $\lambda=240, 310$ nm.

10

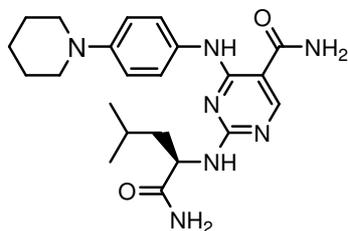
Ejemplo de Referencia 347 (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-morfolinofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

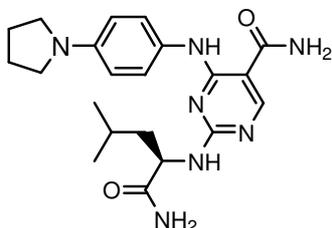
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-morfolinoanilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{21}H_{29}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 428,2. UV $\lambda=246$ nm.

Ejemplo de Referencia 348a. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(piperidin-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(piperidin-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{22}H_{31}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 426,2. UV $\lambda=247, 291$ nm.

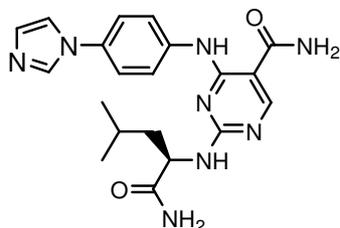
- 5 Ejemplo de Referencia 348b. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(pirrolidin-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(pirrolidin-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{21}H_{29}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 412,2. UV $\lambda=247, 292$ nm.

10

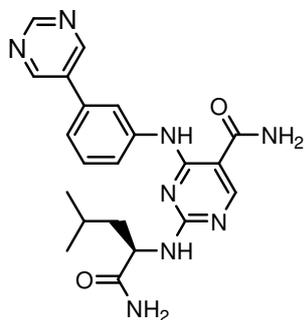
Ejemplo de Referencia 349a. (R)-4-(4-(1H-imidazol-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

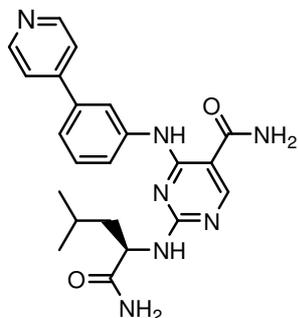
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(1H-imidazol-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 409,2. UV $\lambda=247, 297$ nm.

Ejemplo de Referencia 349b. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-(pirimidin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



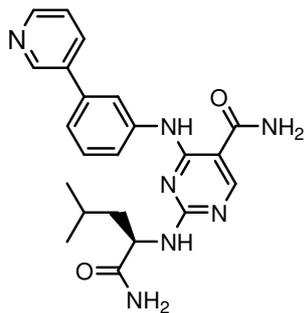
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(pirimidin-5-il)anilina para reemplazar 6-aminoquinolina **169.2**. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 421,2. UV $\lambda=247$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 350. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-(piridin-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



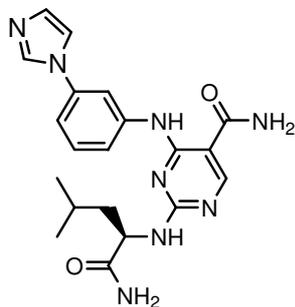
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(piridin-4-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 420,2. UV $\lambda=241, 314$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 351. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



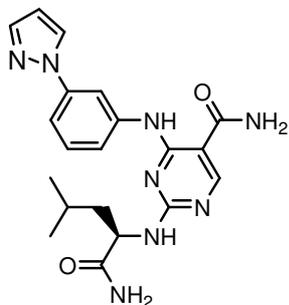
- 15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(piridin-3-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 420,2. UV $\lambda=250$ nm.

Ejemplo de Referencia 352. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(3-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(1H-imidazol-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 409,2. UV $\lambda=243, 284$ nm.

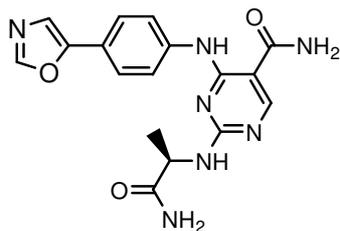
- 5 Ejemplo de Referencia 353. (R)-4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 3-(1H-pirazol-1-il)anilina para reemplazar 6-aminoindazol **165.4**. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 409,2. UV $\lambda=250$ nm.

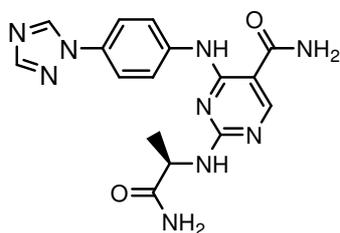
10

Ejemplo de Referencia 354. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(4-(oxazol-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



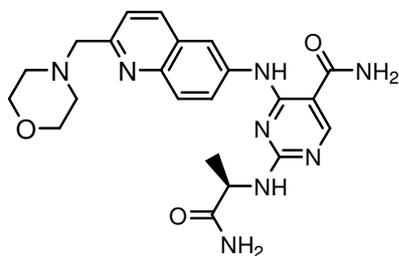
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(oxazol-5-il)anilina para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{17}H_{17}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 368,2.

- 15 Ejemplo de Referencia 355. (R)-4-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)anilina para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{16}H_{17}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 368,2.

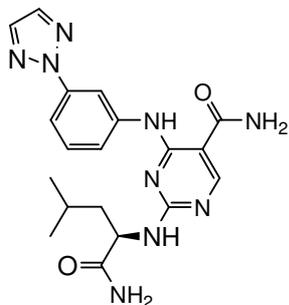
- 5 Ejemplo de Referencia 356. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(2-(morfolinometil)quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



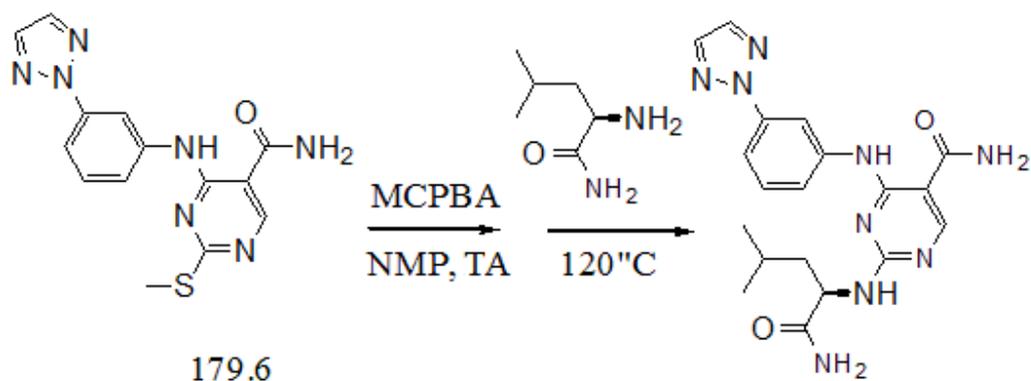
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con 2-(morfolinometil)quinolin-6-amina para reemplazar 6-aminobenzotiofeno. MS experimental para $C_{22}H_{26}N_8O_3$ como $(M+H)^+$ 451,2.

10

Ejemplo de Referencia 357. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

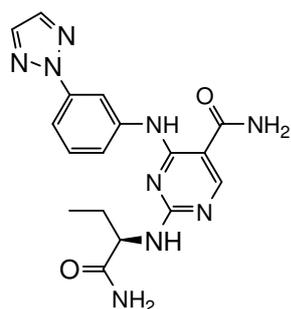


Esquema:



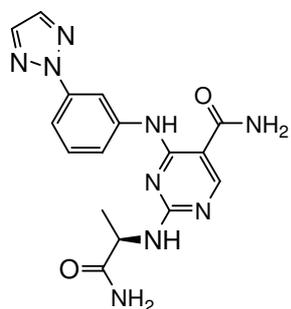
- 5 El compuesto 179.6 (100 mg, 0,31 mmoles) se disolvió en 5 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (97 mg, 0,37 mmoles) y la mezcla se agitó durante 30 min. A ello se añadió DIEA (0,32 mL, 1,86 mmoles) y luego H-D-Leu-NH₂.HCl asequible en comercios (155 mg, 0,93 mmoles). La mezcla se agitó a 120°C durante 3 h. De esta mezcla se aisló el compuesto del título usando HPLC preparativa en fase inversa. MS experimental para C₁₉H₂₃N₉O₂ como (M+H)⁺ 410,3. UV λ=251 nm.

Ejemplo de Referencia 358. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(1-amino-1-oxobutan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



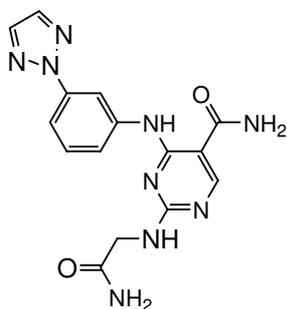
- 10 El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 357. MS experimental para C₁₇H₁₉N₉O₂ como (M+H)⁺ 382,3. UV λ=250 nm.

Ejemplo de Referencia 359. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



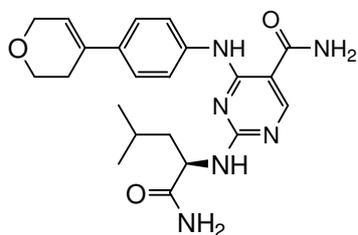
- 15 El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 357. MS experimental para C₁₆H₁₇N₉O₂ como (M+H)⁺ 368,3. UV λ=251 nm.

Ejemplo de Referencia 360. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(2-amino-2-oxoetilamino)pirimidin-5-carboxamida



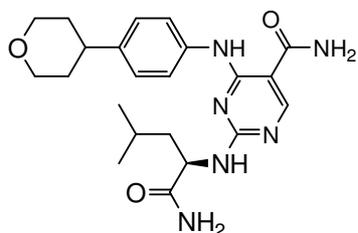
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 357. MS experimental para $C_{15}H_{15}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 354,3. UV $\lambda=250$ nm.

- 5 Ejemplo de Referencia 361. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



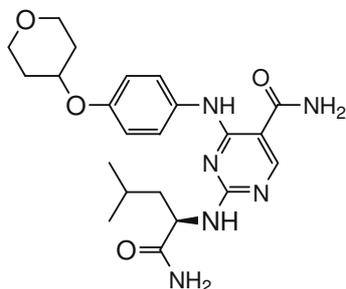
El compuesto del título se preparó usando la química similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 357. MS experimental para $C_{22}H_{28}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 425,4. UV $\lambda=240, 313$ nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 362. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



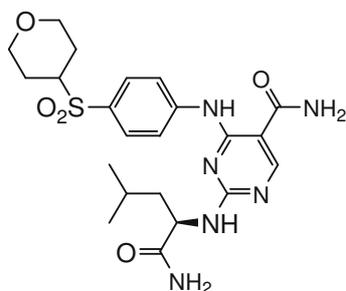
El compuesto del título se preparó a partir del Ejemplo de Referencia 361 usando hidrogenación con catálisis estándar tratando la solución de Ejemplo 261 en metanol con Pd/C al 10% bajo balón de H_2 durante la noche. MS experimental para $C_{22}H_{30}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 427,4. UV $\lambda=244, 298$ nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 363. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con la correspondiente anilina que era asequible en comercios. MS experimental para $C_{22}H_{30}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 443,4. UV $\lambda=244, 295$ nm.

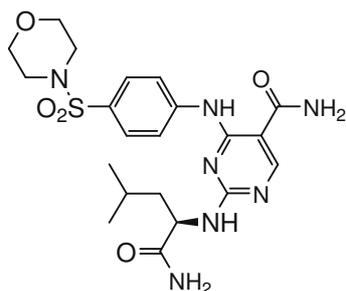
- 5 Ejemplo de Referencia 364. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(tetrahydro-2H-piran-4-ilsulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



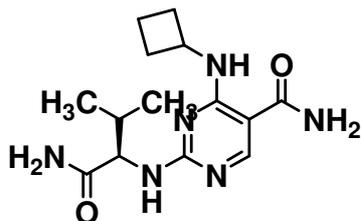
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315 con la correspondiente anilina (síntesis mostrada para el compuesto 266). MS experimental para $C_{22}H_{30}N_6O_5S$ como $(M+H)^+$ 491,4. UV $\lambda=251, 302$ nm.

10

Ejemplo de Referencia 365. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-(morfolinosulfonil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



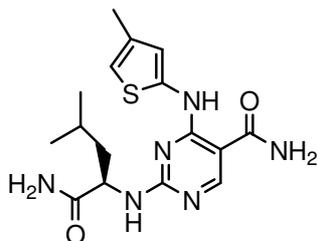
Ejemplo de Referencia 366 (R)-2-(1-amino-3-metil-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(ciclobutilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

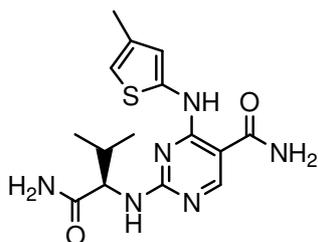
El éter de benzotriazolilo **1.7** (509 mg, 0,17 mmoles), clorhidrato de (R)-valina (30 mg, 0,26 mmoles), diisopropiletilamina (89 μ L, 0,51 mmoles) y 5 mL de 1,4-dioxano se combinaron y se calentaron hasta 120°C durante la noche. La mezcla de reacción luego se enfrió, se diluyó con agua y se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto deseado. MS experimental para $C_{14}H_{22}N_6O_2$ como (M+H)⁺ 307,3.

- 5 Ejemplo de Referencia 367. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(4-metiltiofen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



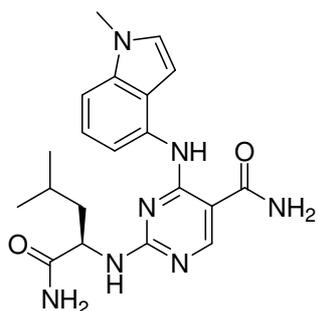
El compuesto del título se sintetizó análogamente usando 4-metiltiofen-2-amina. MS 363,3 (M+H); UV 201,6, 244,3, 326,1 nm.

- 10 Ejemplo de Referencia 368. (R)-2-(1-amino-3-metil-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(4-metiltiofen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



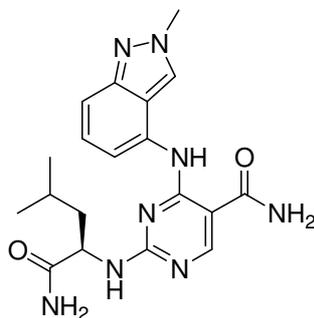
El compuesto del título se sintetizó análogamente usando 4-metiltiofen-2-amina. MS 349,3 (M+H); UV 202,9, 251,0, 324,8 nm.

- 15 Ejemplo de Referencia 369. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



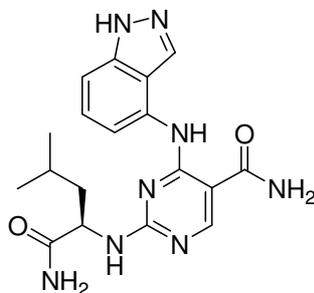
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis mostrado en el Ejemplo de Referencia 318. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O_2$ como (M+H)⁺ 396,3. UV: λ = 216,9, 244,0.

- 20 Ejemplo de Referencia 370. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(2-metil-2H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



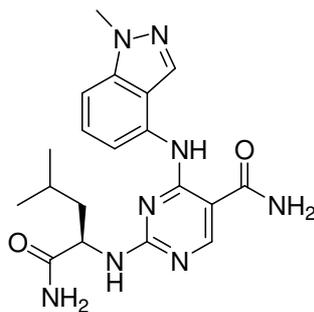
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 318. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 397,4. UV: $\lambda = 213,3, 244,0, 333,1$.

5 Ejemplo de Referencia 371. (*R*)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



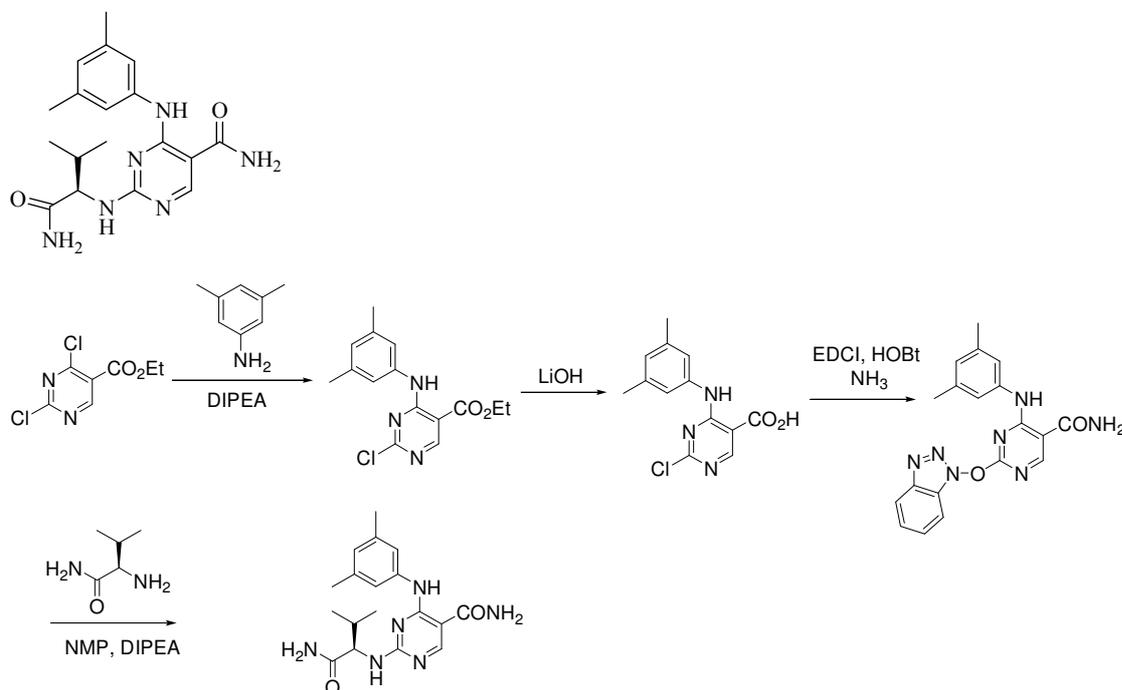
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 318. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383,4. UV: $\lambda = 241,6, 318,8$.

10 Ejemplo de Referencia 372. (*R*)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



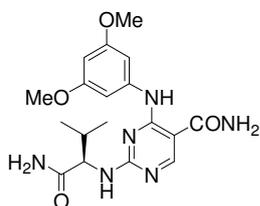
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 318. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 397,4. UV: $\lambda = 207,5, 244,0, 325,9$.

Ejemplo de Referencia 373. (*R*)-2-(1-amino-3-metil-oxobutan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



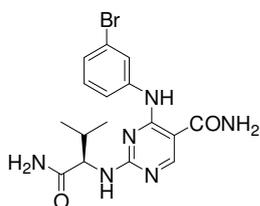
Las etapas 1 y 2 son iguales a las descritas para el Ejemplo 100.

- 5 Etapa 3: La dicloropirimidina **165.3** (5,09 g, 22,6 mmoles) se disolvió en acetonitrilo (50 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadieron 3,5-dimetilanilina (2,19 g, 18,2 mmoles) y luego gota a gota etildisopropilamina (DIEA, 5,74 mL, 33,9 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera tres veces y se concentró al vacío para dar el compuesto crudo **4** en forma de un sólido marrón claro 2,4 gm (88% de rendimiento). MS experimental para $C_{15}H_{16}ClN_3O_2$ como $(M+H)^+$ 306,09.
- 10 Etapa 4: El éster etílico **4** (9,8 mmoles) se disolvió en 20 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (530 mg, 10,2 mmoles) y 15 mL de agua. La mezcla se agitó durante la noche y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 2. La mezcla se concentró al vacío para eliminar THF. El sólido blanco se trituró y se aisló usando un embudo de Büchner. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **5** (2,14 g, 81%) en forma de un sólido blanco. MS experimental para $C_{13}H_{12}ClN_3O_2$ como $(M+H)^+$ 278,1.
- 15 Etapa 5: El ácido carboxílico **5** (1,09 g, 3,6 mmoles) se disolvió en 30 mL de DMF. A ello se añadieron hidrócloruro de EDC (1,24 g, 6,4 mmoles) e hidrato de HOBt (870 mg, 6,4 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió hasta $0^\circ C$ a ello se añadió luego amoníaco (solución 0,4 M comercial en dioxano, 16 mL, 8,3 mmoles). La mezcla se agitó durante 2 horas. Luego se concentró al vacío y se extrajo en agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera cuatro veces. La fase orgánica luego se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró al vacío para obtener el compuesto **6** en forma de un sólido (150 mg, 55%). MS experimental para $C_{19}H_{17}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 376,1.
- 20 Etapa 6: El compuesto **6** (188 mg, 0,5 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadieron H-D-Val-NH₂ HCl (174 mg, 1,5 mmoles) y DIEA (0,200 mL, 1,0 mmoles). La mezcla se agitó durante 90 minutos en un baño a $120^\circ C$. Esta mezcla luego se sometió a HPLC preparativa para aislar el compuesto del título **7**. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 357,20.
- 25 Ejemplo de Referencia 374. (R)-2-((-amino-3-metil-1oxobutan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3,5-dimetoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 388.

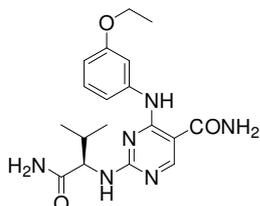
Ejemplo de Referencia 375. (R)-2-((3-bromofenilamino)pirimidin-5-carboxamida.



5

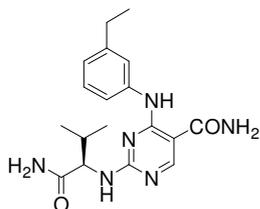
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-bromoanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{16}H_{19}BrN_6O_2$ como $(M+H)^+$ 407.

Ejemplo de Referencia 376. (R)-2-((3-etoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida.



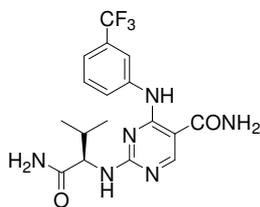
10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-etoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 373

Ejemplo de Referencia 377. (R)-2-((3-etilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida.



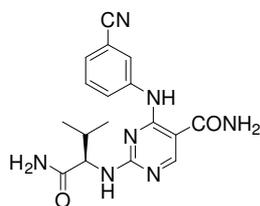
15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-etilanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 356,3

Ejemplo de Referencia 378. (R)-2-((3-(trifluorometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida.



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-trifluorometilaniolina para reemplazar 3,5-dimetilaniolina. MS experimental para $C_{17}H_{19}F_3N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 396,3

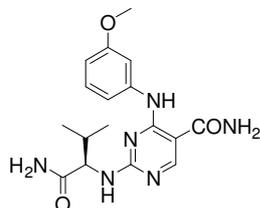
Ejemplo de Referencia 379. (R)-2-(2-amino-3-metil-1oxobutan-2-ilamino)-4-(3-cianofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

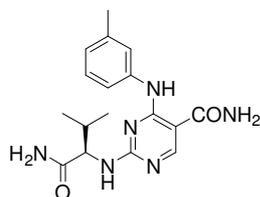
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-aminobenzonitrilo para reemplazar 3,5-dimetilaniolina. MS experimental para $C_{17}H_{19}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 353,38

Ejemplo de Referencia 380. (R)-2-(2-amino-3-metil-1oxobutan-2-ilamino)-4-(3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



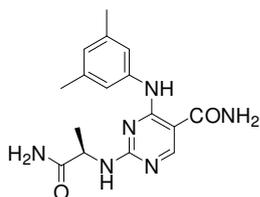
10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con 3-metoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilaniolina. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 358,4

Ejemplo de Referencia 381. (R)-2-(2-amino-3-metil-1oxobutan-2-ilamino)-4-(3-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



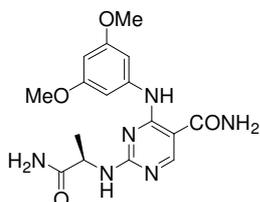
15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con m-toluidina para reemplazar 3,5-dimetilaniolina. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 343

Ejemplo de Referencia 382. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



[El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ala-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₁₆H₂₀N₆O₂ como (M+H)⁺ 328,2.

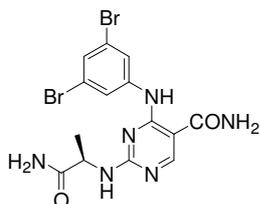
Ejemplo de Referencia 383. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ylamino)-4-(3,5-dimetoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

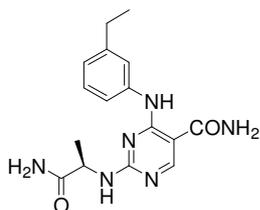
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 382 con 3,5-dimetoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₆H₂₀N₆O₄ como (M+H)⁺ 360,3.

Ejemplo de Referencia 384. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ylamino)-4-(3-bromofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



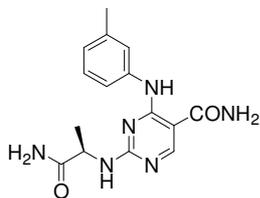
10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 382 con 3-bromoanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₄H₁₅BrN₆O₄ como (M+H)⁺ 360,3.

Ejemplo de Referencia 385. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ylamino)-4-(3-etilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



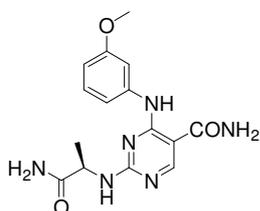
15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 382 con 3-etilanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₆H₂₀N₆O₂ como (M+H)⁺ 328,3.

Ejemplo de Referencia 386. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ylamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 382 con m-toluidina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{15}H_{18}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 314,34.

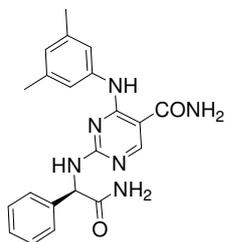
Ejemplo de Referencia 387. (R)-2-(1-amino-1-oxopropan-2-ylamino)-4-(3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

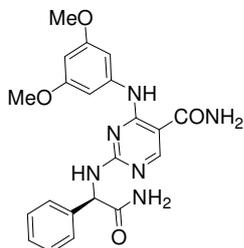
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 382 con 3-metoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{15}H_{18}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 330,34.

Ejemplo de Referencia 388. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-feniletilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



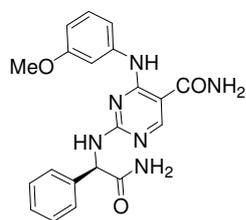
10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para $C_{21}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 328,2.

Ejemplo de Referencia 389. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-feniletilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



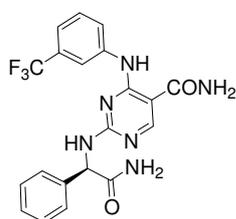
15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3,5-dimetoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para $C_{21}H_{22}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 423.

Ejemplo de Referencia 390. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-feniletilamino)-4-(3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



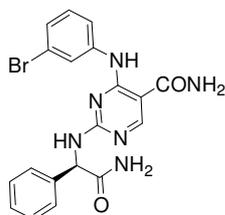
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-metoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₂₀H₂₀N₆O₃ como (M+H)⁺ 392,4.

- 5 Ejemplo de Referencia 391. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-phenylethylamino)-4-(3-trifluorometilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



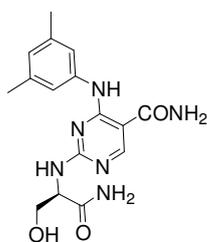
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-trifluorometilanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₂₀H₁₇F₃N₆O₂ como (M+H)⁺ 430,39.

- 10 Ejemplo de Referencia 392. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-phenylethylamino)-4-(3-bromofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



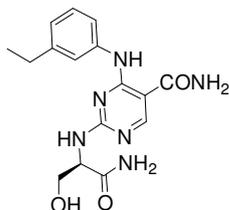
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Phe-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-bromoanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₉H₁₇BrN₆O₂ como (M+H)⁺ 441,29.

- 15 Ejemplo de Referencia 393. (R)-2-(1-amino-3-hidroxi-1-oxo-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



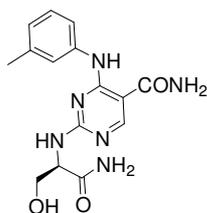
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ser-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₁₆H₂₀N₆O₃ como (M+H)⁺ 344,37.

Ejemplo de Referencia 394. (R)-2-(1-amino-3-hidroxi-1-oxo-2-ilamino)-4-(3-etilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



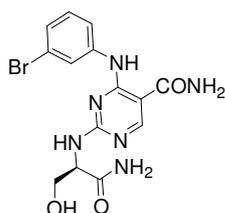
- 5 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ser-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-etilanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₆H₂₀N₆O₃ como (M+H)⁺ 344,37.

Ejemplo de Referencia 396. (R)-2-(1-amino-3-hidroxi-1-oxo-2-ilamino)-4-(3-m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



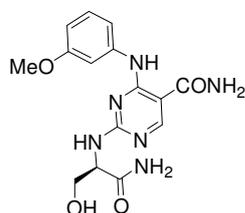
- 10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ser-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y m-toluidina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₅H₁₈N₆O₃ como (M+H)⁺ 330,34.

Ejemplo de Referencia 397. (R)-2-(1-amino-3-hidroxi-1-oxo-2-ilamino)-4-(3-bromofenilamino)pirimidin-5-carboxamida



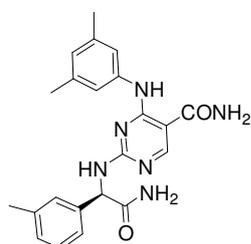
- 15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ser-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-bromoanilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₄H₁₅BrN₆O₃ como (M+H)⁺ 395,22.

Ejemplo de Referencia 398. (R)-2-(1-amino-3-hidroxi-1-oxo-2-ilamino)-4-(3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



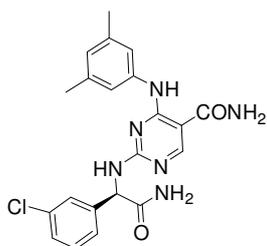
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con H-D-Ser-NH₂ HCl para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl y 3-metoxianilina para reemplazar 3,5-dimetilanilina. MS experimental para C₁₅H₁₈N₆O₄ como (M+H)⁺ 346,34.

- 5 Ejemplo de Referencia 399. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



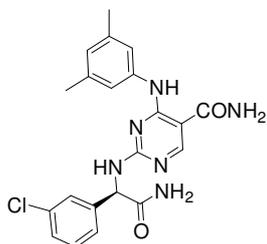
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-m-tolilacetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₂H₂₄N₆O₂ como (M+H)⁺ 404,47.

- 10 Ejemplo de Referencia 400. (R)-2-(2-amino-1-(3-clorofenil)-2-oxoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



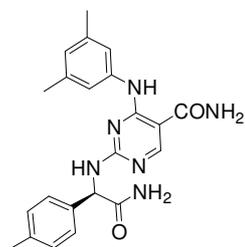
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(3-clorofenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₁H₂₁ClN₆O₂ como (M+H)⁺ 424,89.

- 15 Ejemplo de Referencia 401. (R)-2-(2-amino-1-(3-fluorofenil)-2-oxoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



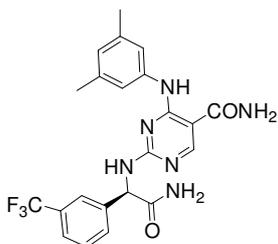
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(3-fluorofenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₁H₂₁FN₆O₂ como (M+H)⁺ 408,43.

- 5 Ejemplo de Referencia 402. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1-p-toliletilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



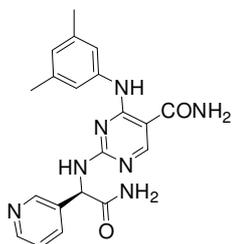
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-p-tolilacetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₂H₂₄N₆O₂ como (M+H)⁺ 404,47.

- 10 Ejemplo de Referencia 403. (R)-2-(2-amino-2-oxo-3-(trifluorometilfenil)etilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



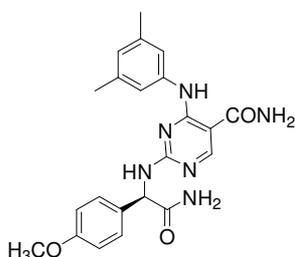
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(3-fluorometilfenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₂H₂₁F₃N₆O₂ como (M+H)⁺ 404,47.

- 15 Ejemplo de Referencia 404. (R)-2-(2-amino-2-oxo-1(piridin-3-il)etilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



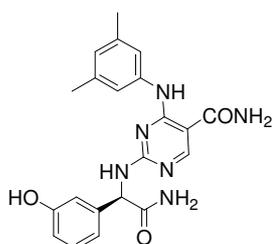
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(piridin-3-il)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₀H₂₁N₇O₂ como (M+H)⁺ 391,43.

- 5 Ejemplo de Referencia 405. (R)-2-(2-amino-1(4-metoxifenil)-2-oxoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



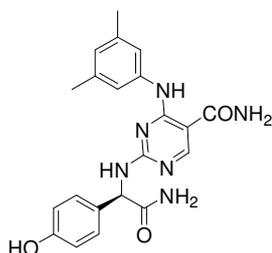
- 10 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(4-metoxifenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₂H₂₄N₆O₃ como (M+H)⁺ 420,47.

- Ejemplo de Referencia 406. (R)-2-(2-amino-1(3-hidroxifenil)-2-oxoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



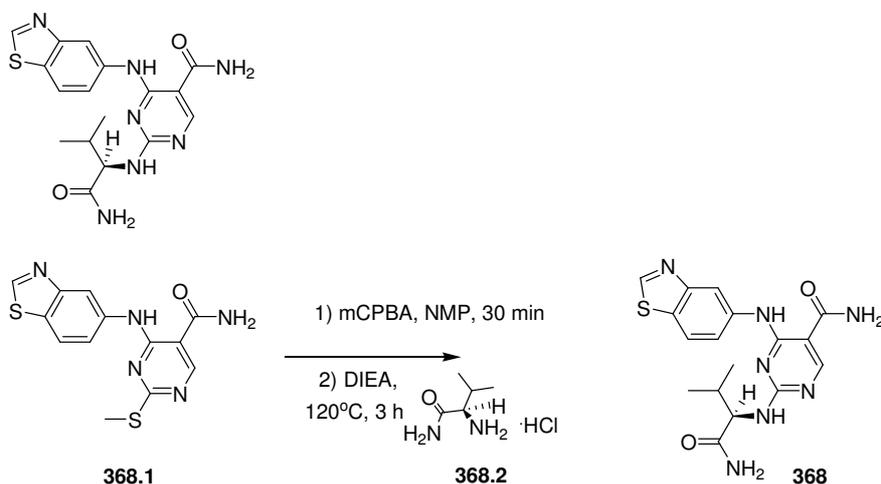
- 15 El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(3-hidroxifenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₁H₂₂N₆O₃ como (M+H)⁺ 406,44.

- Ejemplo de Referencia 407. (R)-2-(2-amino-1(34-hidroxifenil)-2-oxoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



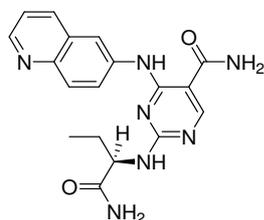
El compuesto anterior se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 373 con (S)-2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamida para reemplazar H-D-Val-NH₂ HCl. MS experimental para C₂₁H₂₂N₆O₃ como (M+H)⁺ 406,44.

- 5 Ejemplo de Referencia 408: (R)-2-(1-amino-3-metil-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

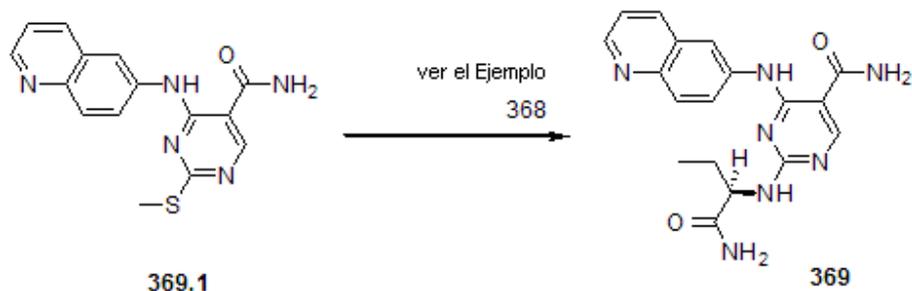


- 10 A una solución agitada de **368.1** (110 mg, 0,347 mmoles) se añadió mCPBA (65%, 130 mg, 0,49 mmoles). La reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente después de lo cual se añadieron DIEA (~0,3 mL) y **368.2** asequible en comercios (180 mg, 1,18 mmoles). La reacción se calentó durante 3 h a 120°C en un tubo sellado. La reacción se enfrió, se volvió ligeramente ácida con TFA en agua y se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para obtener el compuesto del título (28 mg). MS experimental para C₁₇H₁₉N₇O₂S como (M+H)⁺ 386,3. UV λ=248, 294 nm

Ejemplo de Referencia 409: (R)-2-(1-amino-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(quinolin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

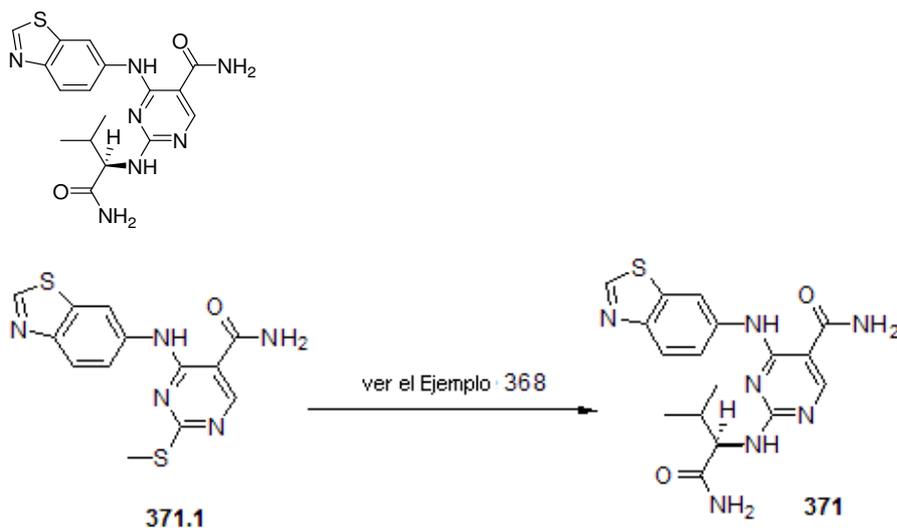


15



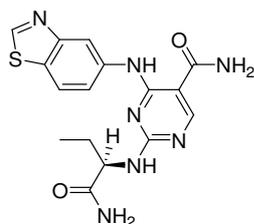
5 El intermediario **369.1** se hizo reaccionar con **346.1** de acuerdo con el Ejemplo de Referencia 408. La HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{18}H_{19}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 366,2. UV $\lambda=240, 283$ nm. δ 1,15 (t, 3H), 1,90-2,10 (m, 2H), 3,10-3,35 (m, 2H), 4,32-4,40 (m, 1H), 7,80-7,90 (m, 1H), 8,07-8,18 (m, 2H), 8,59 (s, 1H), 8,70-8,75 (m, 1H), 8,95-9,05 (m, 2H).

Ejemplo de Referencia 410: (R)-2-(1-amino-3-metil-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



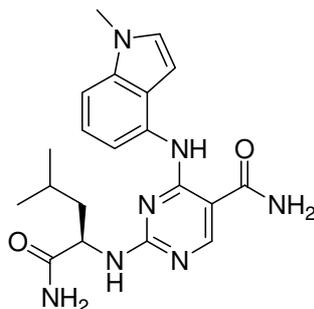
10 El intermedio **371.1** se hizo reaccionar con **368.2** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 408. La HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{19}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 386,4. UV $\lambda=243, 302$ nm.

Ejemplo de Referencia 411: (R)-2-(1-amino-1-oxobutan-2-ilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



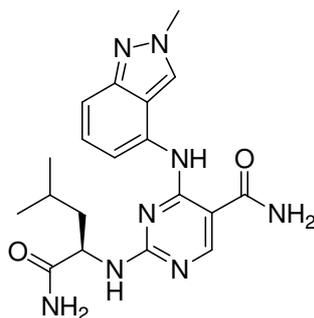
El intermedio **368.1** se hizo reaccionar con **346.1** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 408. La HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{16}H_{17}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 372.3. UV $\lambda=246, 293$ nm

5 Ejemplo de Referencia 412. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



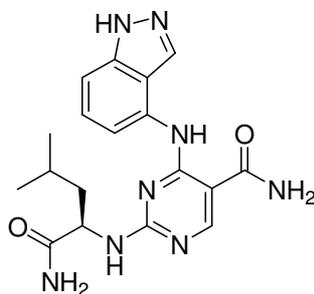
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 417. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 396,3. UV: $\lambda = 216,9, 244,0$.

10 Ejemplo de Referencia 413. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(2-metil-2H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



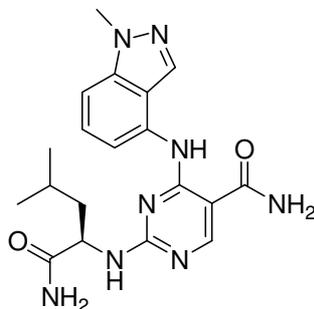
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 397,4. UV: $\lambda = 213,3, 244,0, 333,1$.

15 Ejemplo de Referencia 414. (R)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



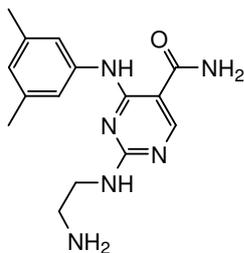
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383,4. UV: $\lambda = 241,6, 318,8$.

Ejemplo de Referencia 415. (*R*)-2-(1-amino-4-metil-1-oxopentan-2-ilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

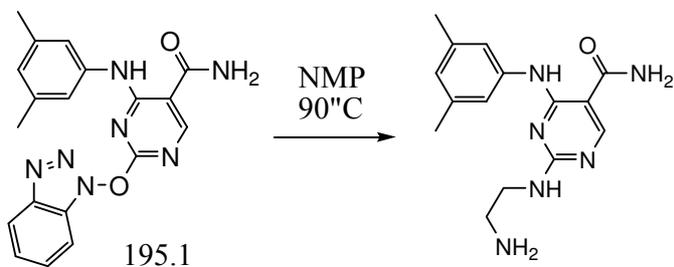


5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 315. MS experimental para $C_{19}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 397,4. UV: $\lambda = 207,5, 244,0, 325,9$.

Ejemplo de Referencia 416. 2-(2-aminoetilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida

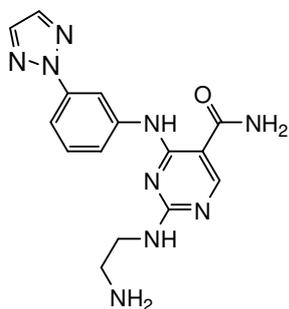


Esquema:

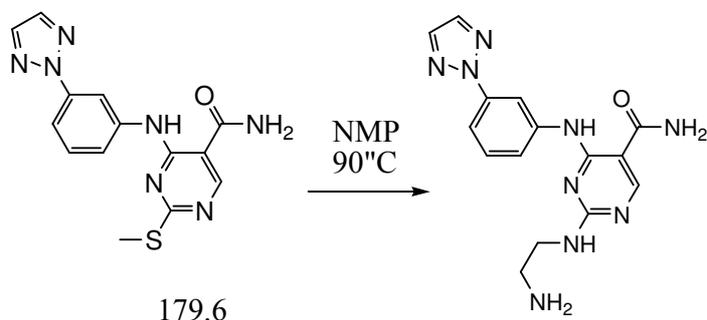


10 El compuesto 195.1 (64 mg, 0,17 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió etilendiamina asequible en comercios (41 mg, 0,68 mmoles). La mezcla se agitó a $90^{\circ}C$ durante 2 h. De esta mezcla se aisló el compuesto del título usando HPLC preparativa en fase inversa. MS experimental para $C_{15}H_{20}N_6O$ como $(M+H)^+$ 301,2. UV $\lambda=240, 292$ nm.

Ejemplo de Referencia 417. 4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(2-aminoetilamino)pirimidin-5-carboxamida

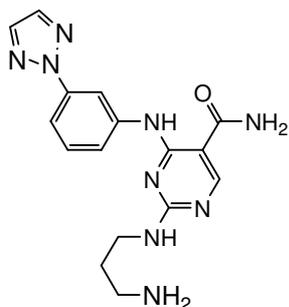


Esquema:



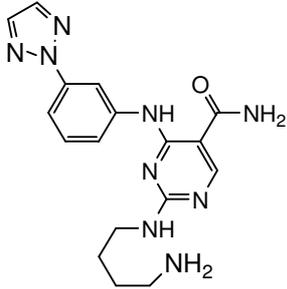
- 5 El compuesto 179.6 (50 mg, 0,15 mmoles) se disolvió en 3 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (49 mg, 0,18 mmoles) y la mezcla se agitó durante 30 min. A ello se añadió etilendiamina (36 mg, 0,60 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 2 h. De esta mezcla se aisló el compuesto del título usando HPLC preparativa en fase inversa. MS experimental para $C_{15}H_{17}N_9O$ como $(M+H)^+$ 340,3. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 418. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(3-aminopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



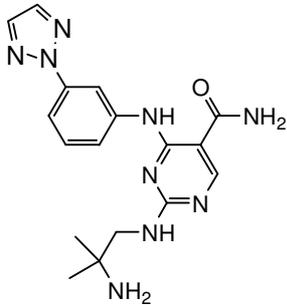
- 10 El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_9O$ como $(M+H)^+$ 354,4. UV $\lambda=251$ nm.

Ejemplo de Referencia 419. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(4-aminobutilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV $\lambda=252$ nm.

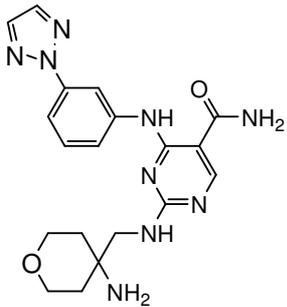
Ejemplo de Referencia 420. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(2-amino-2-metilpropilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV $\lambda=249$ nm.

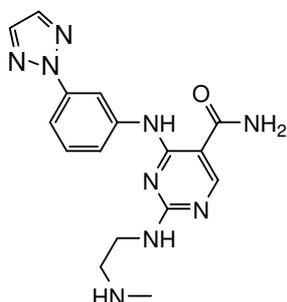
Ejemplo de Referencia 421. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-((4-aminotetrahidro-2H-piran-4-yl)metilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

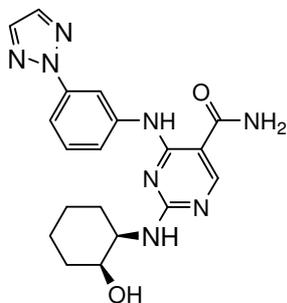
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 422. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(2-(metilamino)etilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417 con 2-aminoetil(metil)carbamato de terc-butilo asequible en comercios, seguido por tratamiento de TFA para escindir el grupo BOC. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_9O$ como $(M+H)^+$ 354,4. UV $\lambda=250$ nm.

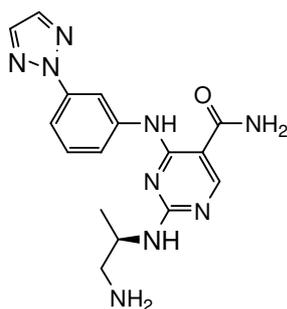
- 5 Ejemplo de Referencia 423. 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-hidroxiciclohexilamino)pirimidin-5-carboxamida (racémica)



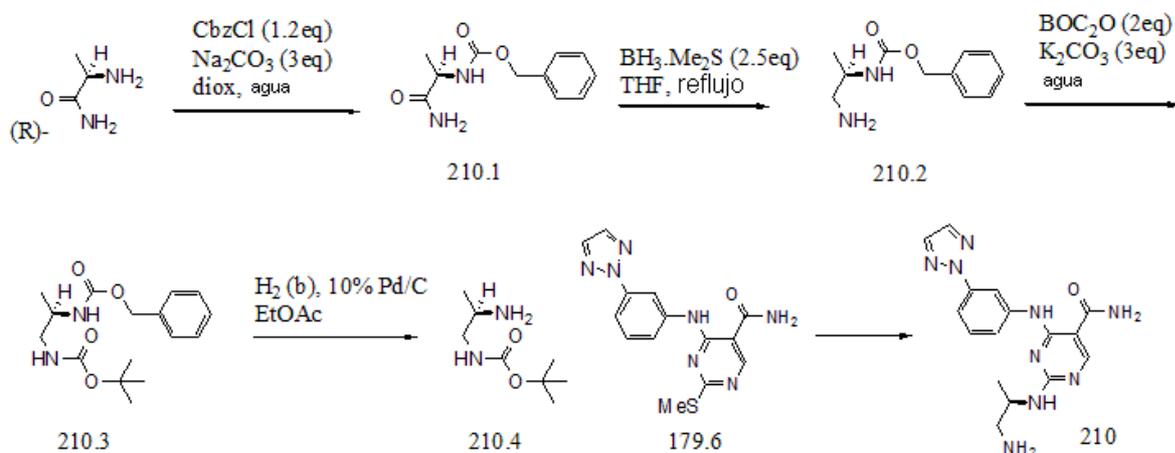
El compuesto racémico del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 417 con asequible en comercios cis-2-amino-1-ciclohexanol y DIEA. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 395,4. UV $\lambda=254$ nm.

10

- Ejemplo de Referencia 424. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(1-aminopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



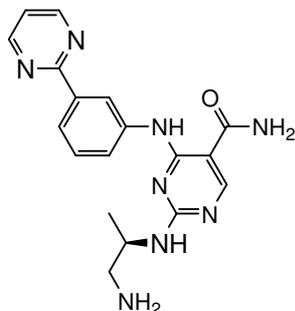
5 Etapa 1: El H-D-Ala-NH₂.HCl asequible en comercios (2,0 g, 16 mmoles) se disolvió en 60 mL de agua y 20 mL de dioxano. A ello se añadieron BzCl (2,7 mL, 19,3 mmoles) y carbonato de sodio (5,1 g, 48 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x3, se secó, se concentró. El residuo se extrajo luego en 450 mL de hexano y 50 mL de DCM, se agitó vigorosamente a 30°C durante 30 min, se filtró. El compuesto 210.1 (>90% de rendimiento) se quedó en fase sólida y la mayor parte de las impurezas y subproductos estaban en el filtrado.

10 Etapa 2: El compuesto 210.1 (16 mmoles) de la Etapa 1 se disolvió en 100 mL de THF. A ello se añadió $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$ (3,8 mL, 40 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó hasta 85°C y se calentó a reflujo moderado durante 5 h. Se enfrió hasta temperatura ambiente. A ello se añadió 100 mL de agua. La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Luego, se añadieron K_2CO_3 (6,62 g, 48 mmoles) y BOC_2O (7,00 g, 32 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x3, se secó, se concentró, se sometió a columna flash de sílice con 35% acetato de etilo en hexano para aislar el compuesto 210.3 (1,22 g, 25% para 3 etapas en general) en forma de sólido blanco.

15 Etapa 3: El compuesto 210.3 (3,96 mmoles) de la Etapa 2 se disolvió en 200 mL de acetato de etilo. A ello se añadió 500 mg de Pd/C al 10% y la mezcla se agitó bajo balón de H₂ durante la noche. Se filtró a través de celite y el celite se enjuagó bien con metanol. El filtrado se concentró al vacío para obtener el compuesto 210.4 en forma de un aceite espeso. Se disolvió en NMP para preparar una solución madre 0,20 M.

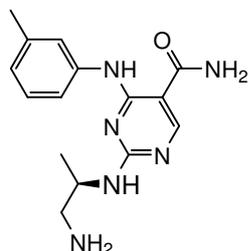
20 Etapa 4: El compuesto 179.6 (100 mg, 0,30 mmoles) se disolvió en 6 mL de NMP. A ello se añadió MCPBA (96 mg, 0,36 mmoles). La mezcla se agitó durante 40 min a temperatura ambiente. A ello se añadieron DIEA (0,21 mL, 1,2 mmoles) y compuesto 210.4 (0,20 M, 3 mL, 0,60 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 2 h. Se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con Na_2CO_3 saturado x2 y salmuera, se secó, se concentró al vacío. El residuo se trató con TFA puro a temperatura ambiente durante 1 h y luego se concentró. El residuo luego se sometió a HPLC preparativa en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_9\text{O}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 354,3. UV $\lambda=250$ nm.

Ejemplo de Referencia 425. (R)-2-(1-aminopropan-2-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



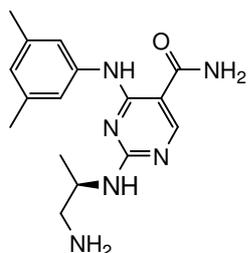
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema químico mostrado para el Ejemplo de Referencia 424 con compuesto 249.4 (dado en el Ejemplo 172). MS experimental para $C_{18}H_{20}N_6O$ como $(M+H)^+$ 365,3. UV $\lambda=247$ nm.

Ejemplo de Referencia 426. (R)-2-(1-aminopropan-2-ilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



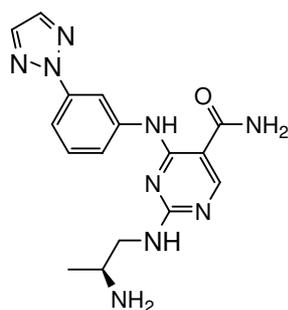
- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema químico mostrado para el Ejemplo de Referencia 424 con el compuesto 187.10 (dado en el Ejemplo 187). MS experimental para $C_{15}H_{20}N_6O$ como $(M+H)^+$ 301,3. UV $\lambda=243, 289$ nm.

Ejemplo de Referencia 427. (R)-2-(1-aminopropan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



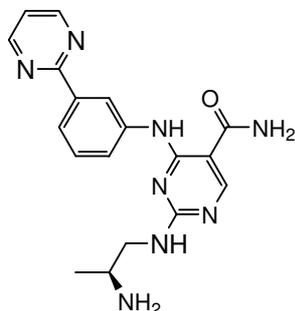
- 10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema químico mostrado para el Ejemplo de Referencia 424 con compuesto 185.1 (dado en el Ejemplo 195). MS experimental para $C_{16}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 315,3. UV $\lambda=243, 289$ nm.

Ejemplo de Referencia 428. (S)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(2-aminopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 15 El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_9O$ como $(M+H)^+$ 354,3. UV $\lambda=250$ nm.

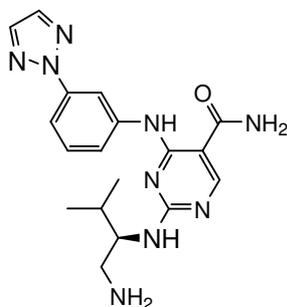
Ejemplo de Referencia 215. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{18}H_{20}N_8O$ como $(M+H)^+$ 365,3. UV $\lambda=247$ nm.

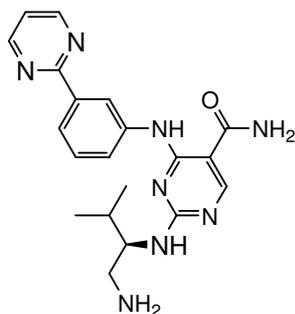
5

Ejemplo de Referencia 216. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(1-amino-3-metilbutan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 382,4. UV $\lambda=251$ nm.

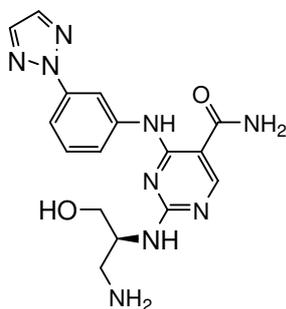
Ejemplo de Referencia 217. (R)-2-(1-amino-3-metilbutan-2-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

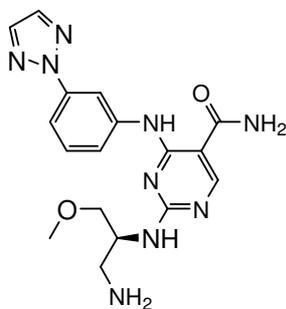
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_8O$ como $(M+H)^+$ 393,4. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 218. (S)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-(1-amino-3-hidroxiopropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida

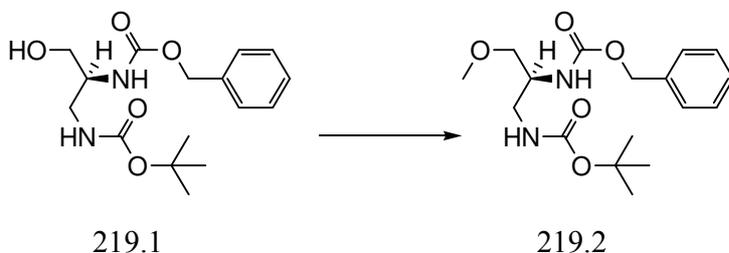


El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 370,3. UV $\lambda=248$ nm.

5 Ejemplo de Referencia 219. (S)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(1-amino-3-metoxipropan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



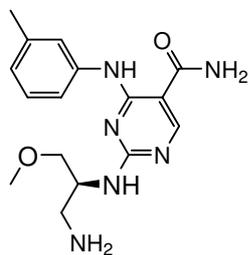
Esquema:



10 El compuesto 219.1 se preparó usando la misma química que para el compuesto 210.3 mostrada en el Ejemplo de Referencia 414. El compuesto 219.1 (2,0 g, 6 mmoles) se disolvió en 100 mL de DCM. A ello se añadieron esponja de protones (3,2 g, 15 mmoles) a temperatura ambiente. 3 min más tarde, se añadió $Me_3O^+BF_4^-$ (2,2 g, 15 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se diluyó con 500 mL de acetato de etilo, se lavó con salmuera x2, se secó, se concentró, se sometió a columna flash de sílice (40% acetato de etilo en hexano) para dar el compuesto 219.2 (1,77 g, 87%) en forma de sólido blanco.

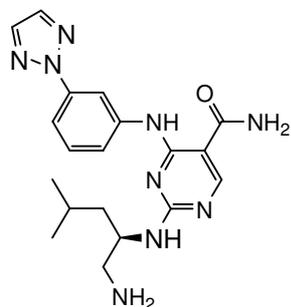
15 El compuesto del título se completó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424 con compuesto 218.2. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_9O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV $\lambda=249$ nm.

Ejemplo de Referencia 220. (S)-2-(1-amino-3-metoxipropan-2-ilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



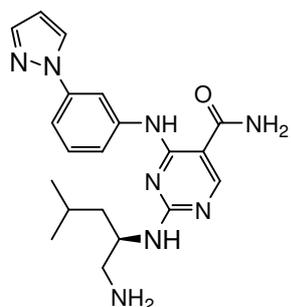
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 219. MS experimental para $C_{16}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 331,3. UV $\lambda=240, 289$ nm.

5 Ejemplo de Referencia 221. (R)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)-2-(1-amino-4-metilpentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



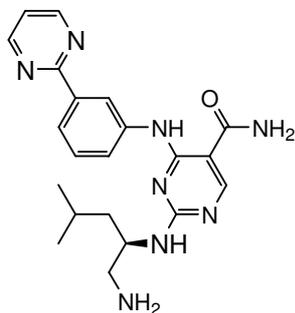
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_9O$ como $(M+H)^+$ 396,4. UV $\lambda=250$ nm.

10 Ejemplo de Referencia 428. (R)-4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-(1-amino-4-metilpentan-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



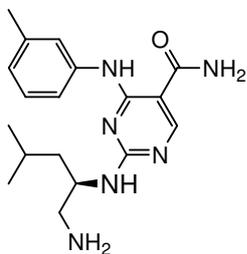
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{20}H_{26}N_8O$ como $(M+H)^+$ 395,4. UV $\lambda=247$ nm.

15 Ejemplo de Referencia 429. (R)-2-(1-amino-4-metilpentan-2-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{21}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 405,4. UV $\lambda=247$ nm.

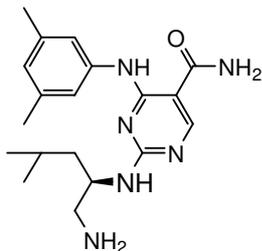
Ejemplo de Referencia 431. (R)-2-(1-amino-4-metilpentan-2-ilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

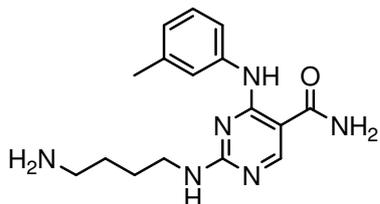
El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{18}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 343,4. UV $\lambda=244, 288$ nm.

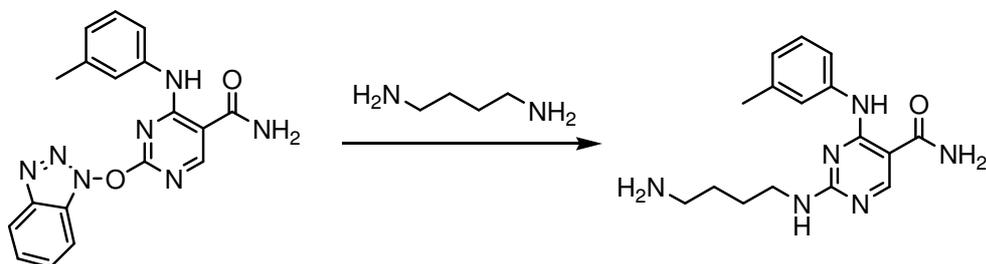
Ejemplo de Referencia 432. (R)-2-(1-amino-4-metilpentan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 El compuesto del título se preparó usando el esquema químico similar mostrado para el Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{19}H_{28}N_6O$ como $(M+H)^+$ 357,4. UV $\lambda=241, 290$ nm.

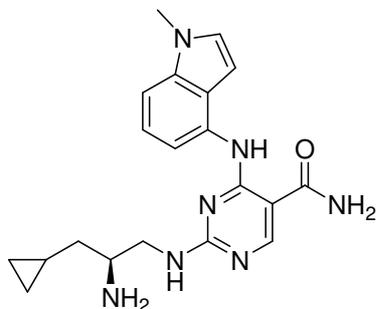
Ejemplo de Referencia 433 2-(4-aminobutilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida





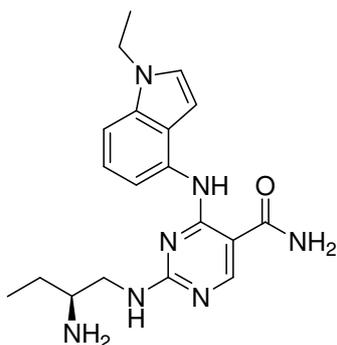
5 A una solución de 1,4-diaminobutano (0,48 g, 5,5 mmoles) en DMF (5 mL), se añadió gota a gota una solución de compuesto 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-iloxi)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida (0,53 g, 1,47 mmoles) en DMF (5 mL). Se agitó luego a temperatura ambiente durante 20 h. Se concentró al vacío. El residuo se purificó por HPLC para dar el compuesto del título en forma de sal de ácido trifluoroacético (0,55 g). MS 315,2 (M+H); UV 249,7.

Ejemplo de Referencia 434. (S)-2-(2-amino-3-ciclopropilpropilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



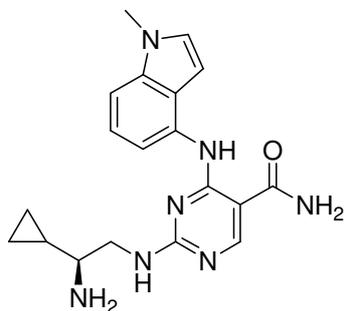
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O$ como (M+H)⁺ 380,4. UV: $\lambda = 219,8, 241,1, 330,3$.

Ejemplo de Referencia 435. (S)-2-(2-aminobutilamino)-4-(1-etil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



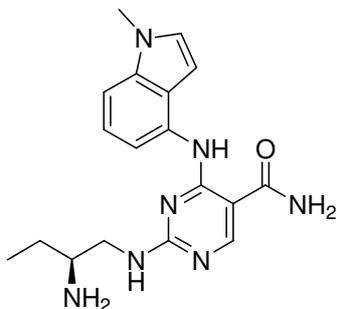
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O$ como (M+H)⁺ 368,4. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 331,9$.

15 Ejemplo de Referencia 436. (S)-2-(2-amino-2-ciclopropiletilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



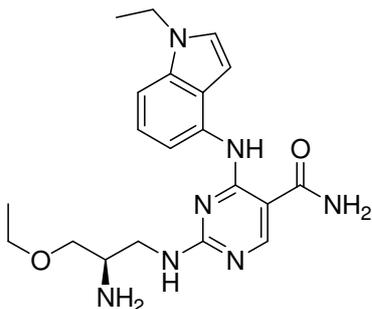
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 366,4. UV: $\lambda = 220,2, 241,4, 330,6$. RMN (CD_3OD): δ 8,27 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,85 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,06-7,00 (m, 3H), 6,80 (m, 1H), 6,12 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 2,67 (m, 2H), 1,19 (m, 3H), 0,97 (m, 1H), 0,42-0,31 (m, 6H) ppm.

Ejemplo de Referencia 437. (S)-2-(2-aminobutilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



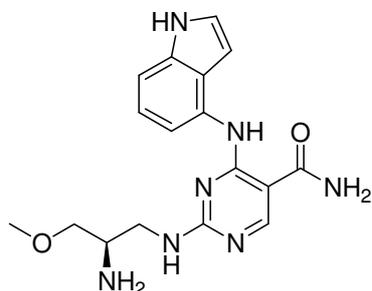
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 354,4. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 333,1$.

10 Ejemplo de Referencia 438. (R)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1-etil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



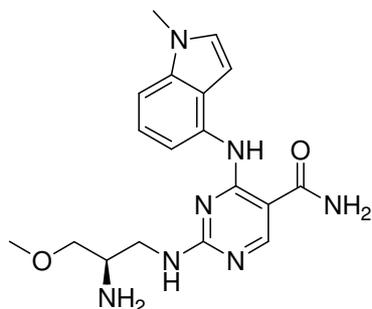
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 398,4. UV: $\lambda = 219,3, 239,4, 326,7$.

Ejemplo de Referencia 439. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 356,4. UV: $\lambda = 216,7, 238,7, 327,2$.

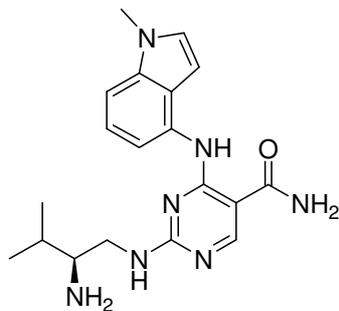
Ejemplo de Referencia 440. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

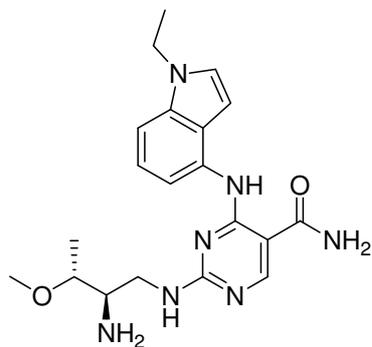
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,4. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 331,9$.

Ejemplo de Referencia 441. (*R*)-2-(2-amino-3-metilbutilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



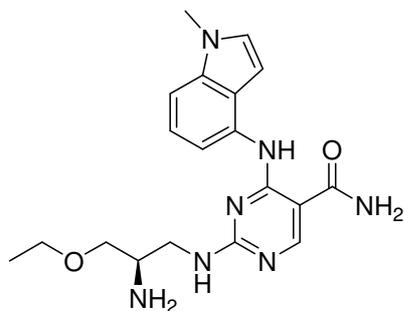
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV: $\lambda = 220,4, 325,9$.

Ejemplo de Referencia 442. 2-((2R, 3R)-2-amino-3-metoxilbutilamino)-4-(1-etil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 398,4. UV: $\lambda = 220,4, 239,9, 331,6$.

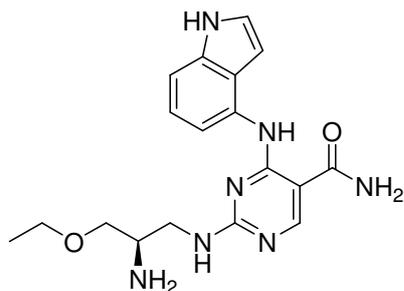
Ejemplo de Referencia 443. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

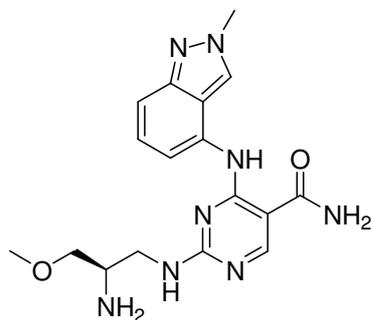
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 331,9$.

Ejemplo de Referencia 444. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



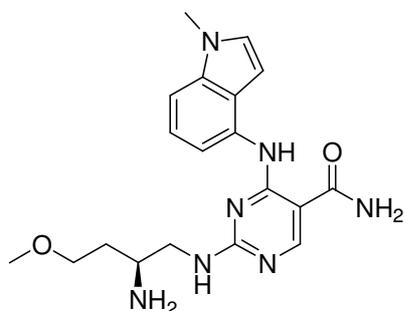
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,3. UV: $\lambda = 215,7, 238,1, 327,1$.

Ejemplo de Referencia 445. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2-metil-2*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



[El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 371,3. UV: $\lambda = 214,9, 241,7, 324,1$.

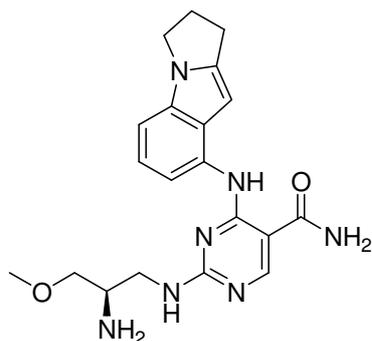
Ejemplo de Referencia 446. (*R*)-2-(2-amino-4-metoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 331,9$.

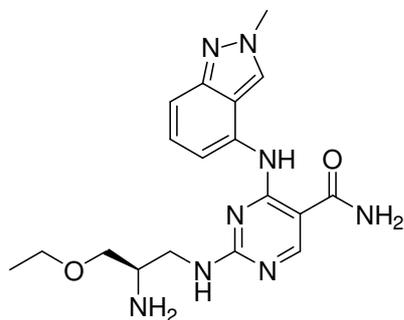
Ejemplo de Referencia 447. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-a]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 396,4. UV: $\lambda = 203,9, 244,0, 303,3$.

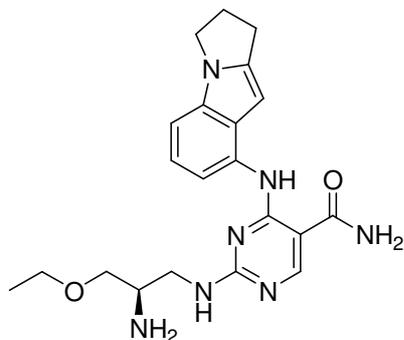
Ejemplo de Referencia 448. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(2-metil-2*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 385,4. UV: $\lambda = 208,6, 240,4, 283,1, 324,7$.

5

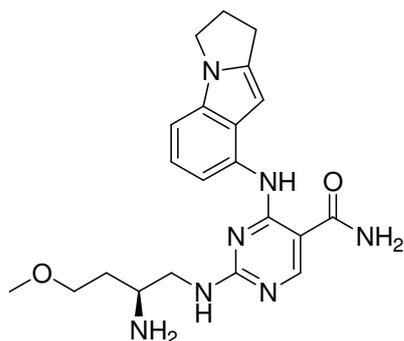
Ejemplo de Referencia 449. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 221,6, 336,7$.

10

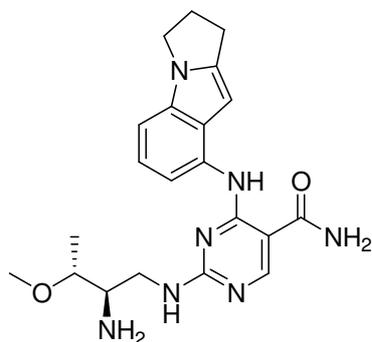
Ejemplo de Referencia 450. (*S*)-2-(2-amino-4-metoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 222,8, 336,7$.

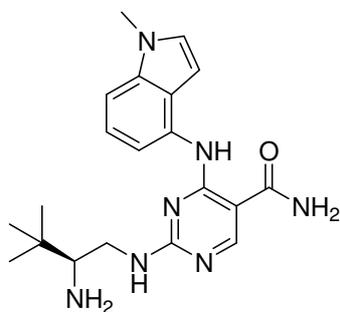
15

Ejemplo de Referencia 451. 2-((*2R, 3R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 221,6, 335,5$.

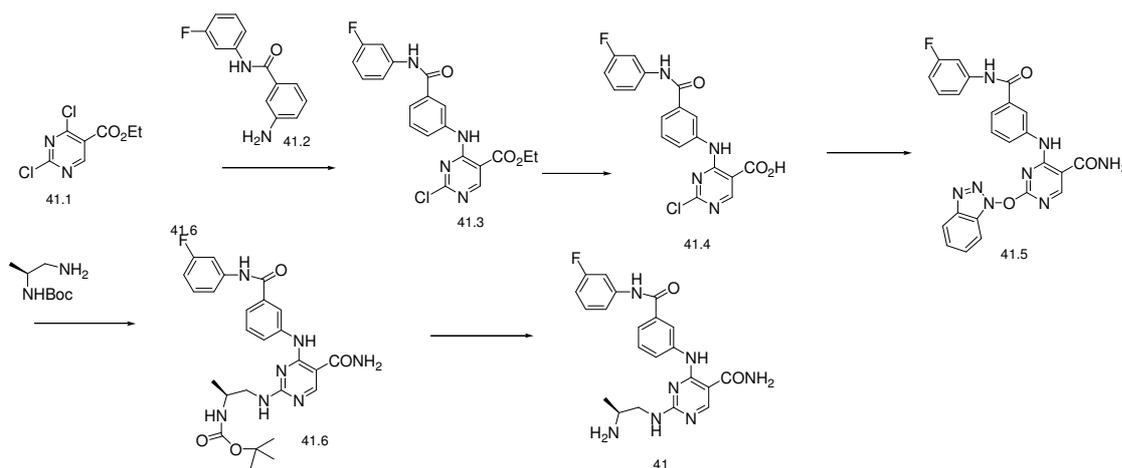
Ejemplo de Referencia 452. (S)-2-(2-amino-3,3-dimetilbutilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 382,4. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 327,1$.

Ejemplo de Referencia 453 (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(3-fluorofenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (41)



10

Etapa 1: El éster de dicloropirimidina 41.1 (3,44 g, 15,5 mmoles) se disolvió en acetonitrilo (20 mL) y se agitó en baño de hielo. A ello se añadió una solución de anilina **41.2** (3,0 g, 14,1 mmoles) y etildisopropilamina (DIEA, 3,85 mL, 35,5 mmoles) en 10 mL de acetonitrilo gota a gota usando un embudo adicional. La mezcla se agitó durante 1 hora, el

solvente se evaporó seguido por dilución con agua para precipitar el compuesto **41.3** en forma de un sólido amarillo (4,2 g, 75%). MS: (M+H)⁺ 416,09

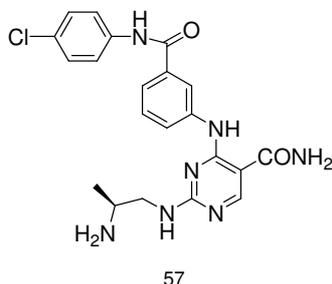
5 Etapa 2: El éster etílico **41.3** (2 g, 5 mmoles) se disolvió en 10 mL de THF. A ello se añadieron hidróxido de litio hidratado (275 mg, 6,5 mmoles) y 10 mL de agua. La mezcla se agitó durante 1 hora y a ello se añadió con cuidado solución 1 N de HCl hasta que el pH alcanzó 3. La mezcla se concentró al vacío para eliminar el THF. El sólido blanco se trituro y se aisló usando un embudo de Büchner. Se lavó con agua y se secó en horno de vacío para dar el compuesto **41.4** (1,65 g, 89%) en forma de un sólido blanco. MS: (M+H)⁺ 388,06

10 Etapa 3: El ácido carboxílico **41.4** (1 g, 2,7 mmoles) se disolvió en 15 mL de DMF. A ello se añadieron hidrocloreuro de EDC (934 mg, 4,86 mmoles) e hidrato de HOBt (660 mg, 4,86 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. A ello se añadió luego amoníaco (solución 0,5 N comercial en dioxano, 14 mL, 6,75 mmoles) a 0°C. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se añadió agua para obtener el compuesto **41.5** en forma de un sólido blanco (1,26 g, 86%). MS: (M+H)⁺ 485,14.

15 Etapa 4: El éter de benzotriazolilo **41.5** (500 mg, 1 mmoles) se disolvió en 15 mL de ACN. A ello se añadió (S)-terc-butil-1-aminopropano-2-il-carbamato (373 mg, 2,1 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a 50°C. Después de enfriar, se añadió agua y se agitó durante 1 h para obtener el compuesto **41.6** en forma de un sólido blanco (0,541 g, 92%). MS experimental para C₂₆H₃₀FN₇O₄ como (M+H)⁺ 524,24.

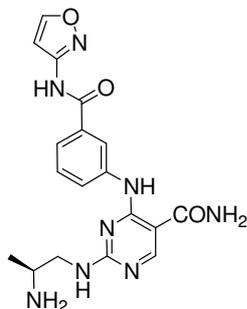
20 Etapa 5: El compuesto **41.6** (100 mg, 0,2 mmoles) se agitó en una mezcla 1:1 (5 mL) de TFA y diclorometano a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se concentró al vacío seguido por adición de éter diisopropílico para obtener el compuesto **No. 41** en forma de un sólido blanco (50 mg, 59%). MS experimental para C₂₁H₂₂FN₇O₂ como (M+H)⁺ 424,19.

Ejemplo de Referencia 454 (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(4-clorofenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (57)



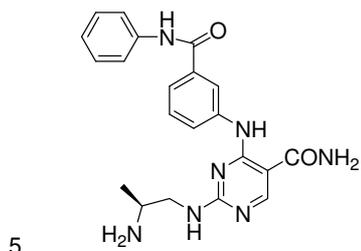
25 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(4-clorofenil)benzamida para reemplazar la 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para C₂₁H₂₂ClN₇O₂ como (M+H)⁺ 440.

Ejemplo de Referencia 455. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(isoxazol-3-ilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



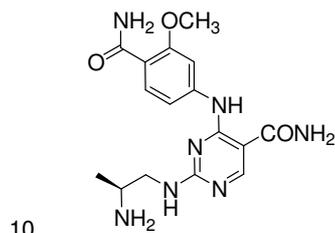
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(isoxazol-3-il)benzamida para reemplazar la 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{18}H_{20}N_8O_3$ como $(M+H)^+$ 396

Ejemplo de Referencia 456. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(fenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



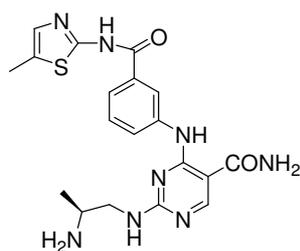
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-fenilbenzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{21}H_{23}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 406

Ejemplo de Referencia 457. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(4-carbamoyl-3-metoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida (121)



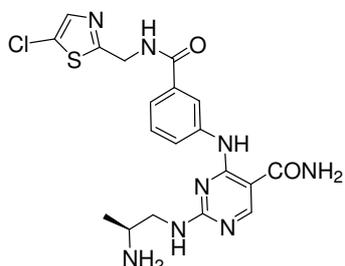
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 4-amino-2-metoxibenzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{16}H_{21}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 360

15 Ejemplo de Referencia 458. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(5-metiltiazol-2-ilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (123)



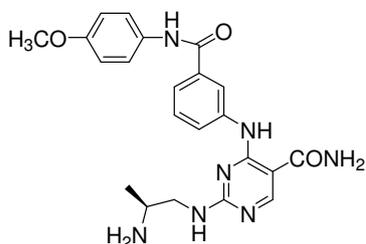
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(5-metiltiazol-2-il)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 427

20 Ejemplo de Referencia 459. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-((5-clorotiazol-2-ilmetilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida (125)



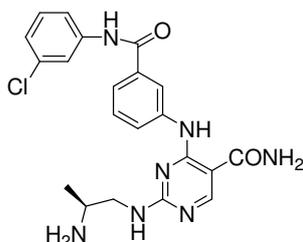
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-((5-clorotiazol-2-il)metil)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{19}H_{21}CN_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 447

- 5 Ejemplo de Referencia 460. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(metoxifenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



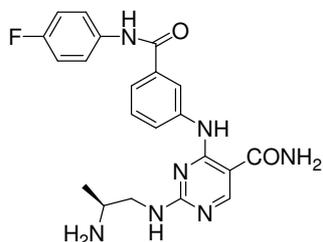
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(4-metoxifenil)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 436

- 10 Ejemplo de Referencia 461. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(3-clorofenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



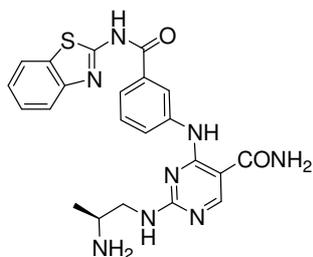
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(3-clorofenil)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{21}H_{22}CN_7O_2$ como $(M+H)^+$ 440

- 15 Ejemplo de Referencia 462. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(4-fluorofenilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(4-fluorofenil)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{21}H_{22}FN_7O_2$ como $(M+H)^+$ 424

- 5 Ejemplo de Referencia 463. (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-ilcarbamoil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



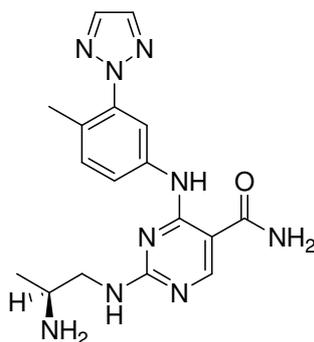
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453 con 3-amino-N-(benzo[d]tiazol-2-il)benzamida para reemplazar a 3-amino-N-(3-fluorofenil)benzamida. MS experimental para $C_{22}H_{22}N_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 463

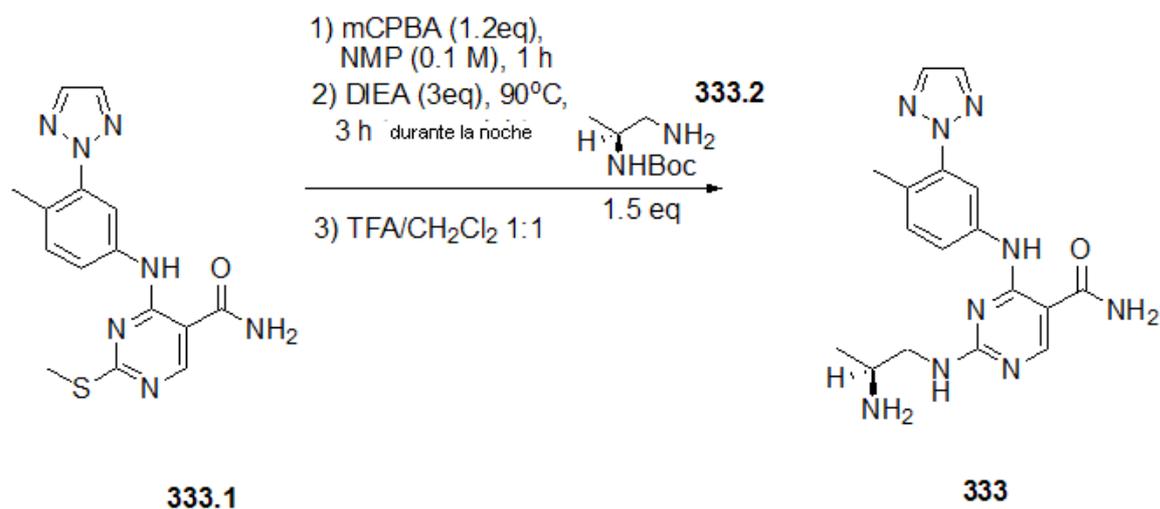
10

Los compuestos No. 140, 141, 144, 156, 163, 164, 166, 172, 173, 176, 177, 180, 191, 194, 200, 201, 213, 215, 218, 221, 222, 228, 233, 237, 238 y 239 se prepararon usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 453.

15

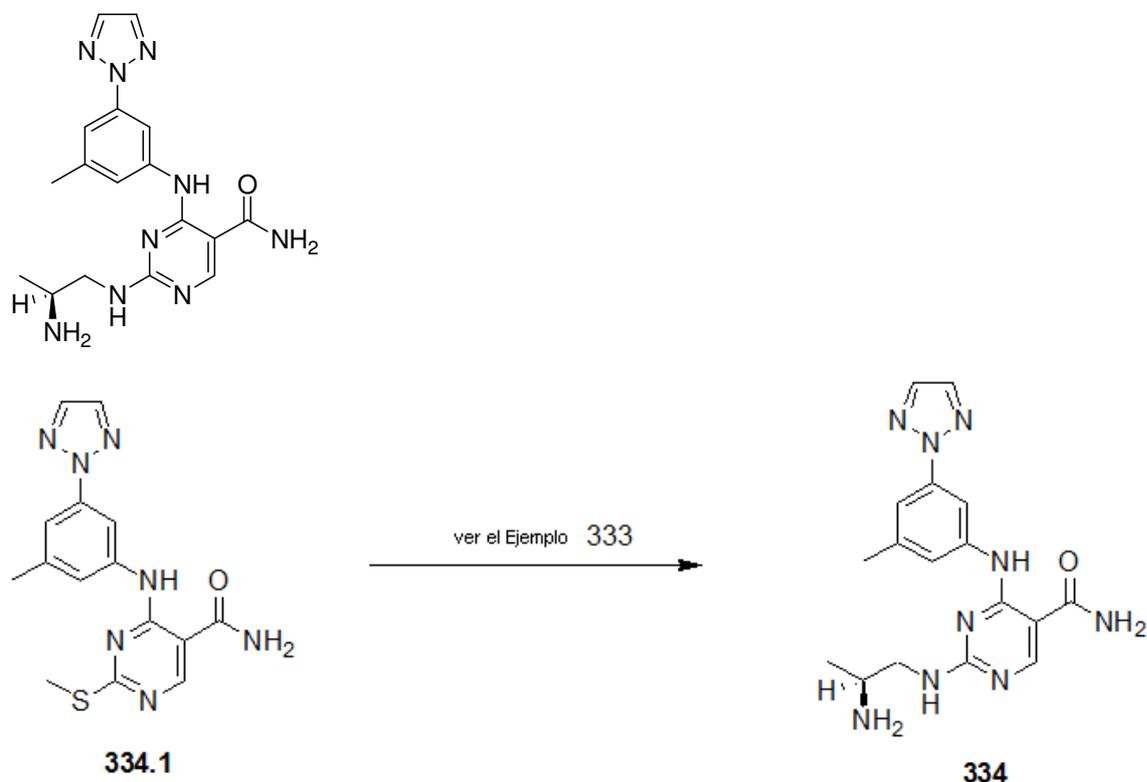
Ejemplo de Referencia 464: (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida





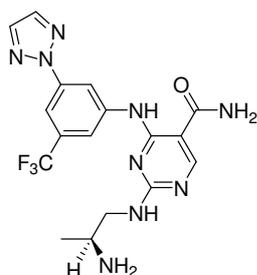
Este compuesto se preparó de una manera análoga a **81** en el Ejemplo 87. Sin embargo, en lugar del derivado de 4-(tiazol-4-ilo) **81.1**, se usó el derivado de 4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-ilo). Además, en lugar de (1S,2R)-2-aminociclohexilcarbamato de terc-butilo **81.2**, se usó éster terc-butilico de ácido N-((S)-2-amino-1-metiletil)carbámico **333.2** [CAS 146552-71-8]. MS experimental para C₁₇H₂₁N₉O como (M+H)⁺ 368,4. UV λ= 242 nm.

Ejemplo de Referencia 465: (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(5-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



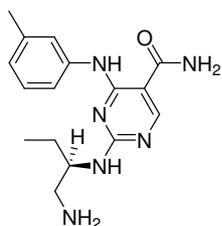
Este compuesto se preparó de una manera análoga a **333** en el Ejemplo de Referencia 464. Sin embargo, en lugar del derivado de 4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-ilo) **333.1**, se usó el derivado de 5-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-ilo) **334.1**. MS experimental para C₁₇H₂₁N₉O como (M+H)⁺ 368,3. UV λ= 246 nm

5 Ejemplo de Referencia 466: (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)-5-(trifluorometil)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

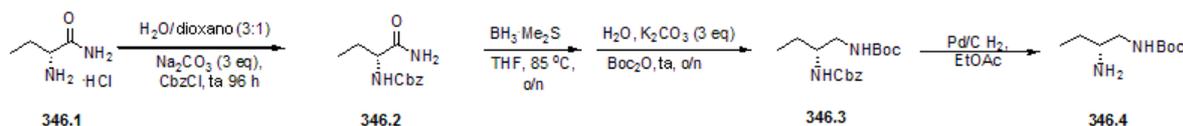


El compuesto del título se preparó de acuerdo con el esquema 464 usando **335.3** como la anilina de partida. MS experimental para C₁₇H₁₈F₃N₉O como (M+H)⁺ 422,3. UV λ= 260 nm

Ejemplo de Referencia 467: (R)-2-(1-aminobutan-2-ilamino)-4-(3-metilfenil)pirimidin-5-carboxamida



10



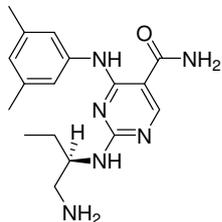
15 El hidrocloreto de (R)-(-)-2-butanamida asequible en comercios (**346.1**; 2,41 g, 17,4 mmoles) [CAS 103765-03-3] se disolvió en agua/dioxano (60 mL/20 mL) que contenía Na₂CO₃ (5,53 g, 52,2 mmoles). A la solución agitada, se añadió clorofórmato de bencilo (2,81 mL, 20,9 mmoles) [CAS 501-53-1]. La reacción se agitó durante 96 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (400 mL) y agua (100 mL). Las capas se separaron y las capas orgánicas se lavaron con agua (2x150 mL) y salmuera (2x150 mL). La capa de EtOAc se secó (MgSO₄) y se concentró. El sólido blanco resultante se trituró con 360 mL de hexanos/50 mL de CH₂Cl₂ durante 1 h. El sólido se filtró, se lavó con hexanos y se secó para dar **346.2** (3,46 g).

20 A una solución agitada de **346.2** (3,46 g, 14,7 mmoles) en THF anhidro (100 mL) se añadió BH₃·Me₂S (3,45 mL, 36,6 mmoles) gota a gota. La solución resultante se calentó bajo una atmósfera de argón a 85 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se enfrió y se añadió agua helada lentamente (100 mL). La solución resultante se agitó durante 1 h. A continuación, se añadió K₂CO₃ (6,08 g, 44,1 mmoles) seguido por Boc anhídrido (6,40 g, 29,4 mmoles). La reacción se agitó durante 18 h y luego se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con 5% de K₂CO₃, 5% de NaHCO₃, agua y salmuera. Luego se secó sobre MgSO₄ y se concentró para obtener **346.3**.

25 El **346.3** crudo se disolvió en ~50 mL de EtOAc y se añadió una cantidad catalítica de Pd/C al 10%. A esta suspensión, se cargó un balón de hidrógeno con agitación. La mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacío para obtener **346.4**.

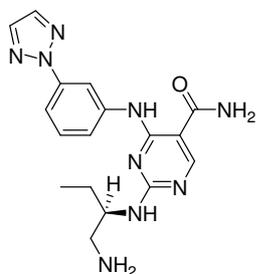
30 El intermedio **346.4** se hizo reaccionar con **344.1** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo 13. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para C₁₆H₂₂N₆O como (M+H)⁺ 315,4. UV λ=238, 284 nm.

Ejemplo de Referencia 468: (R)-2-(1-aminobutan-2-ilamino)-4-(3,5-dimetilfenil)pirimidin-5-carboxamida



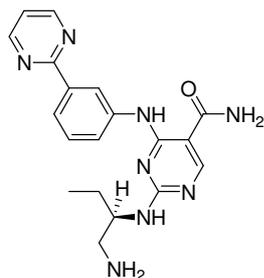
- 5 El intermediario **346.4** se hizo reaccionar con **345.1** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo 13. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 329,5. UV $\lambda=240, 290$ nm. δ 1,05 (t, 3H), 1,70-1,80 (m, 2H), 2,38 (s, 6H), 3,15-3,35 (m, 2H), 4,16-4,23 (m, 1H), 6,90 (s, 1H), 7,19-7,25 (m, 2H), 8,50 (s, 1H)

Ejemplo de Referencia 469: (R)-2-(1-aminobutan-2-ilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il) fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

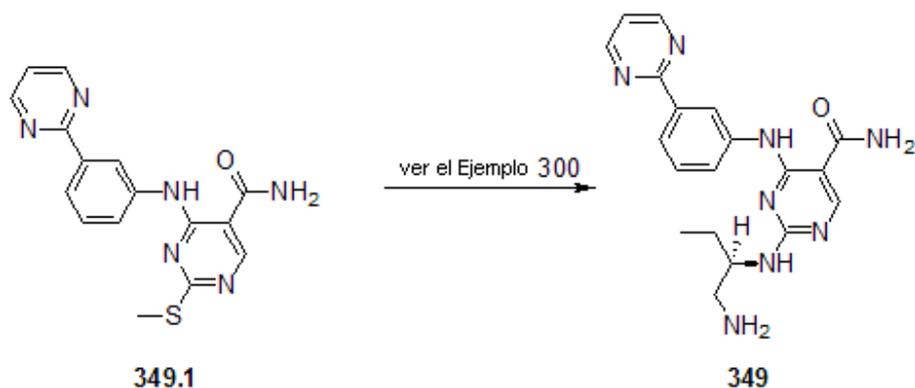


- 10 El intermedio **346.4** se hizo reaccionar con **343.5** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 424. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV $\lambda=248$ nm. δ 1,05 (t, 3H), 1,70-1,80 (m, 2H), 3,10-3,35 (m, 2H), 4,55-4,61 (m, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,92 (d, 1H), 8,00 (s, 2H), 8,58 (s, 1H), 9,00 (s, 1H)

Ejemplo de Referencia 470: (R)-2-(1-aminobutan-2-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida

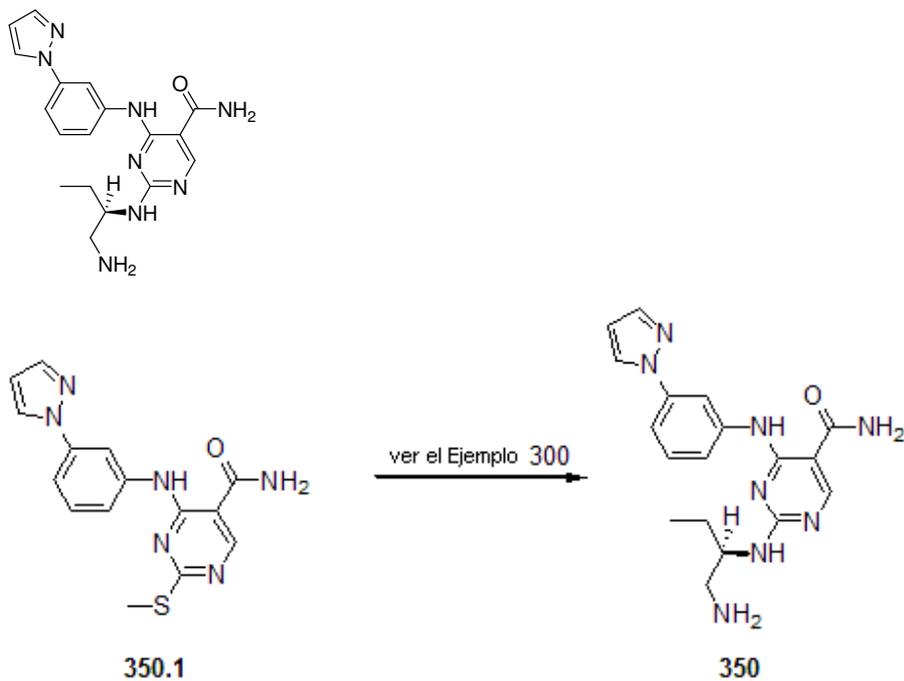


15



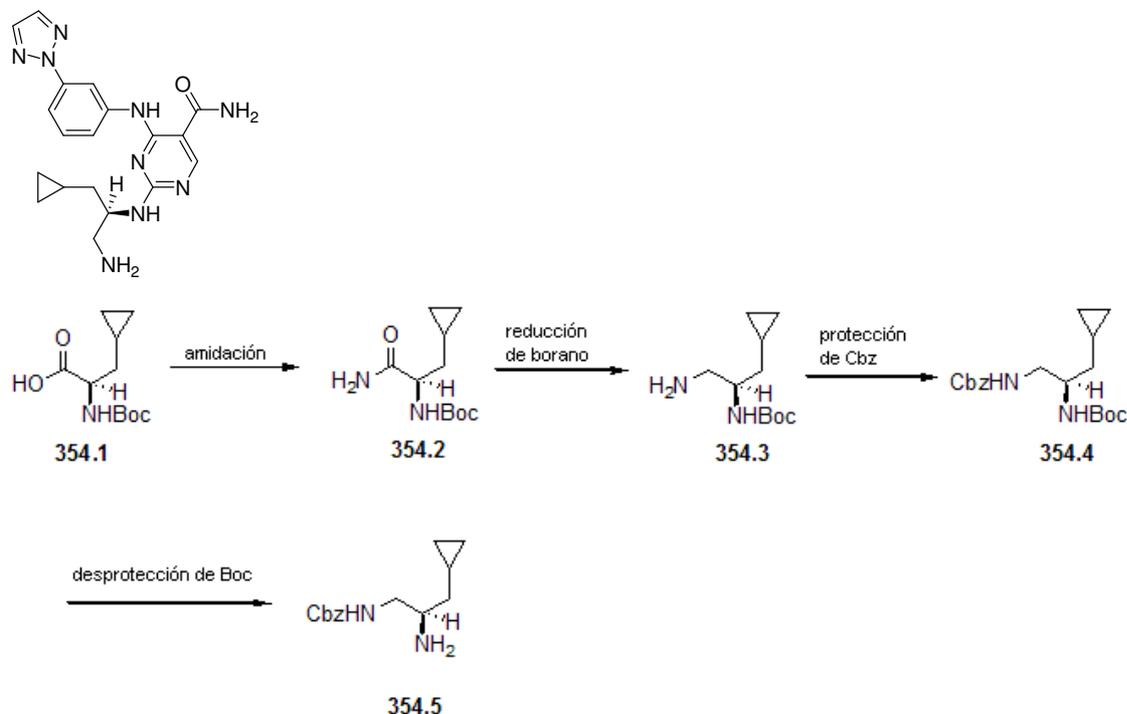
El intermedio **346.4** se hizo reaccionar con **349.1** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 424. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 379,5. UV $\lambda=248$ nm. δ 1,05 (t, 3H), 1,70-1,80 (m, 2H), 3,10-3,35 (m, 2H), 4,48-4,55 (m, 1H), 7,41 (t, 1H), 7,55-7,60 (m, 2H), 8,25-8,35 (m, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,89 (d, 2H), 9,00 (s, 1H)

Ejemplo de Referencia 471: 2-((R)-1-aminobutan-2-ilamino)-4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



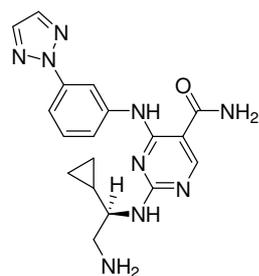
El intermedio **346.4** se hizo reaccionar con **350.1** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 424. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O$ como $(M+H)^+$ 367,4. UV $\lambda=246$ nm. δ 1,05 (t, 3H), 1,70-1,80 (m, 2H), 3,10-3,35 (m, 2H), 4,48-4,55 (m, 1H), 6,58 (br s, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,50-7,62 (m, 2H), 7,80 (br s, 1H), 8,32 (br s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,68 (br s, 1H)

Ejemplo de Referencia 472: (R)-2-(1-amino-3-ciclopropilpropan-2-ilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



- 5 El intermedio **354.5** se hizo reaccionar con **343.5** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 424. Después de la desprotección de Cbz, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV $\lambda=250$ nm.

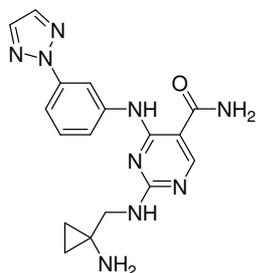
Ejemplo de Referencia 473: (R)-2-(1-amino-3-ciclopropiletilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

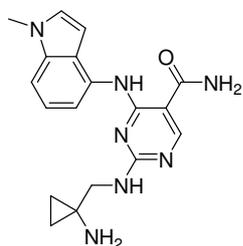
El compuesto del título se preparó de una manera análoga al Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV $\lambda=250$ nm. δ 0,50-0,85 (m, 4H), 1,15-1,25 (m, 1H), 3,10-3,35 (m, 2H), 3,90-4,00 (m, 1H), 7,30-7,36 (m, 1H), 7,60 (t, 1H), 7,93-8,00 (m, 1H), 8,05 (s, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,90 (br s, 1H).

- 15 Ejemplo de Referencia 474: 2-((1-aminociclopropilmetil)amino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga al Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{17}H_{19}N_9O$ como $(M+H)^+$ 366,4. UV $\lambda=248$ nm.

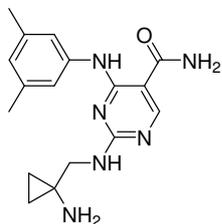
Ejemplo de Referencia 475: 2-((1-aminociclopropilmetil)amino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

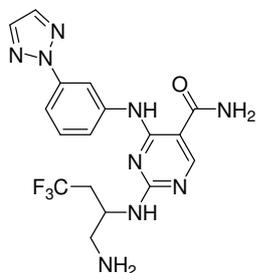
El compuesto del título se preparó de una manera análoga al Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O$ como $(M+H)^+$ 352,4. UV $\lambda=217, 239, 331$ nm.

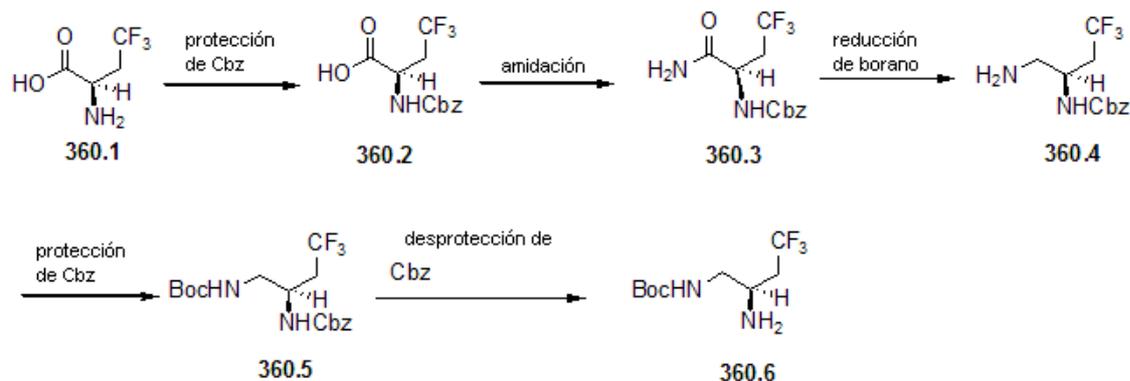
Ejemplo de Referencia 476: 2-((1-aminociclopropilmetil)amino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga al Ejemplo de Referencia 424. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 327,4. UV $\lambda=241, 290$ nm.

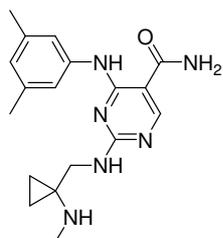
Ejemplo de Referencia 478: 2-(1-amino-4,4,4-trifluorobutan-2-ilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida





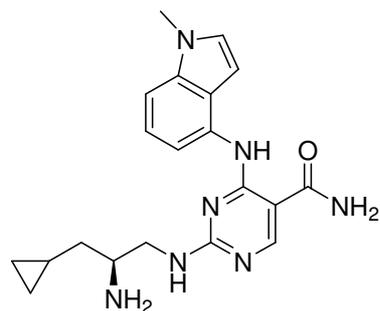
El intermediario **360.6** se hizo reaccionar con **343.5** de acuerdo con la química descrita en el Ejemplo de Referencia 424. Después de la desprotección de Boc, la HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{17}H_{18}F_3N_9O$ como $(M+H)^+$ 422,4. UV $\lambda=245$ nm. 2,70-2,80 (m, 2H), 4,25-4,35 (m, 1H), 7,35-7,41 (m, 1H), 7,49-7,55 (m, 1H), 7,88-7,94 (m, 1H), 7,98 (s, 2H), 8,59 (s, 1H), 8,86 (br s, 1H).

Ejemplo de Referencia 479: 2-((1-metilaminociclopropilmetil)amino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



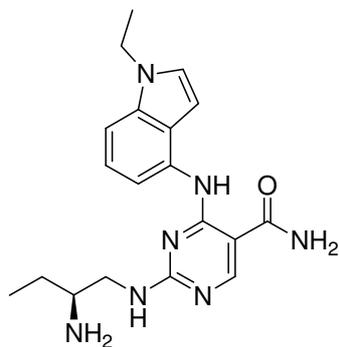
El intermediario **345.1** se hizo reaccionar con 1-(aminometil)-N-metilciclopropanamina de acuerdo con el Ejemplo de Referencia 408. La HPLC preparativa en fase inversa dio como resultado el compuesto del título. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 341,5. UV $\lambda=240$ nm.

Ejemplo de Referencia 480. (S)-2-(2-amino-3-ciclopropilpropilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



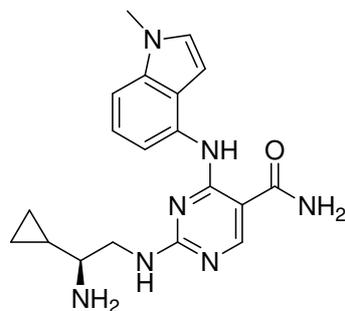
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV: $\lambda = 219,8, 241,1, 330,3$.

Ejemplo de Referencia 481. (S)-2-(2-aminobutilamino)-4-(1-etil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 331,9$.

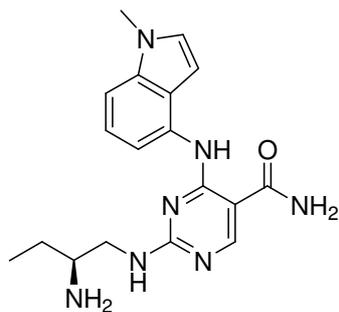
Ejemplo de Referencia 482. (*S*)-2-(2-amino-2-ciclopropiletilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

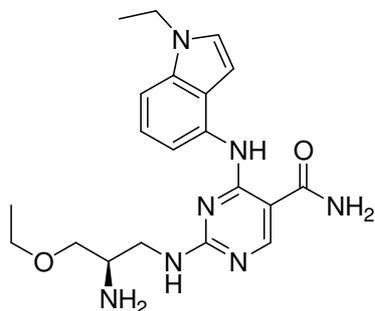
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 366,4. UV: $\lambda = 220,2, 241,4, 330,6$.

Ejemplo de Referencia 483. (*S*)-2-(2-aminobutilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



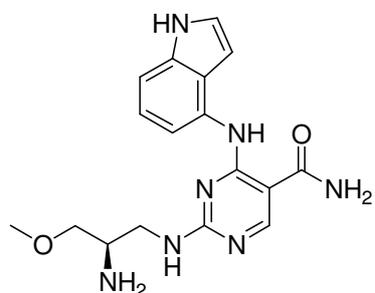
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 354,4. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 333,1$.

Ejemplo de Referencia 484. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1-etil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 398,4. UV: $\lambda = 219,3, 239,4, 326,7$.

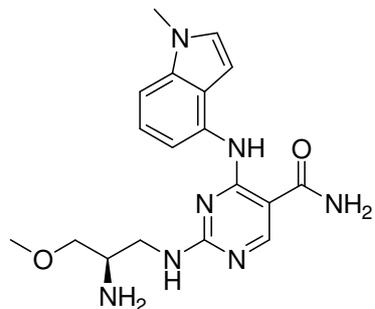
Ejemplo de Referencia 485. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1H-indol-4-ylamino)pirimidin-5-carboxamida



5

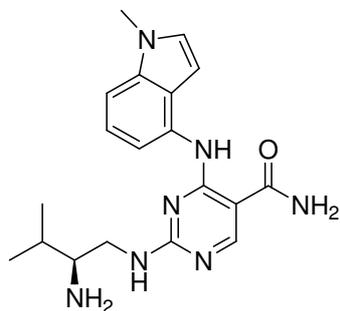
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 356,4. UV: $\lambda = 216,7, 238,7, 327,2$.

Ejemplo de Referencia 486. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ylamino)pirimidin-5-carboxamida



10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,4. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 331,9$.

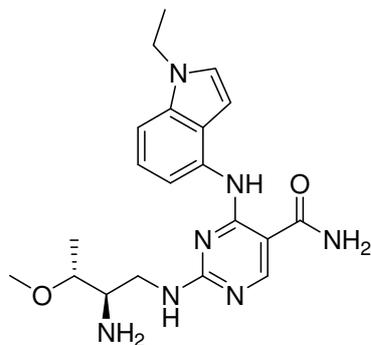
Ejemplo de Referencia 487. (R)-2-(2-amino-3-metilbutilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ylamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV: $\lambda = 220,4, 325,9$.

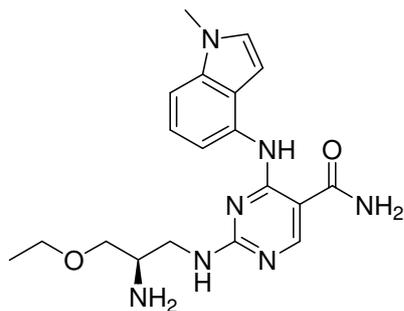
5

Ejemplo de Referencia 488. 2-((2R, 3R)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(1-etil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 398,4. UV: $\lambda = 220,4, 239,9, 331,6$.

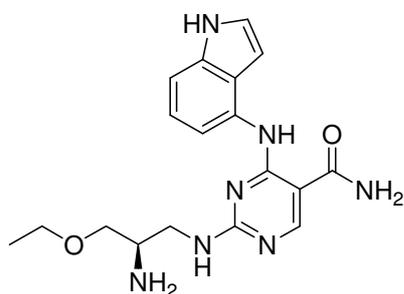
Ejemplo de Referencia 489. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

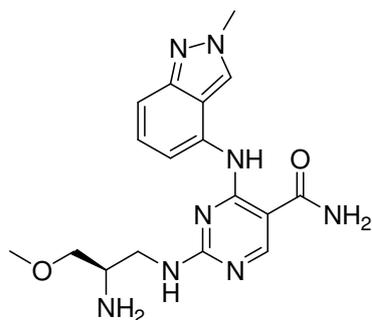
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 331,9$.

Ejemplo de Referencia 490. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,3. UV: $\lambda = 215,7, 238,1, 327,1$.

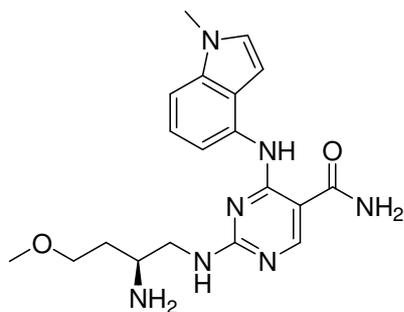
Ejemplo de Referencia 491. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2-metil-2H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

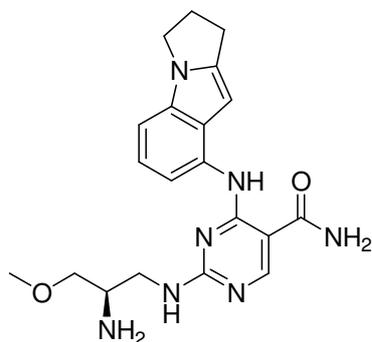
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 371,3. UV: $\lambda = 214,9, 241,7, 324,1$.

Ejemplo de Referencia 492. (*R*)-2-(2-amino-4-metoxipropilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



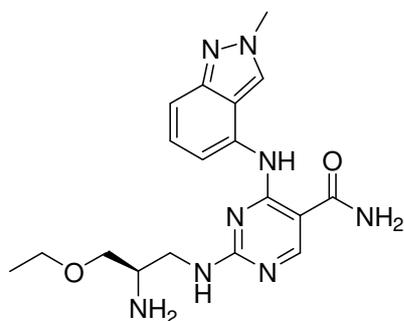
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 219,2, 240,4, 331,9$.

Ejemplo de Referencia 493. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1H-pirrololo[1,2-a]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 396,4. UV: $\lambda = 203,9, 244,0, 303,3$.

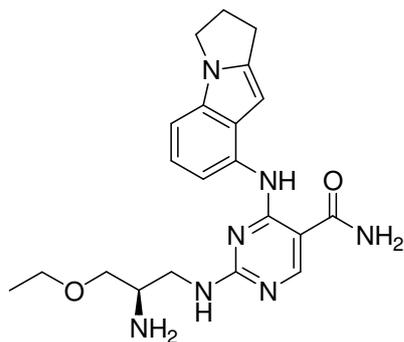
Ejemplo de Referencia 494. (R)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(2-metil-2H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 385,4. UV: $\lambda = 208,6, 240,4, 283,1, 324,7$.

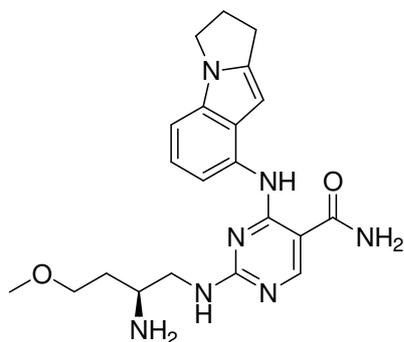
Ejemplo de Referencia 495. (R)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1H-pirrol[1,2-a]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

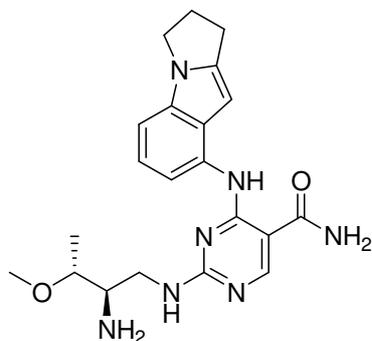
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 221,6, 336,7$.

Ejemplo de Referencia 496. (S)-2-(2-amino-4-metoxipropilamino)-4-(2,3-dihidro-1H-pirrol[1,2-a]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



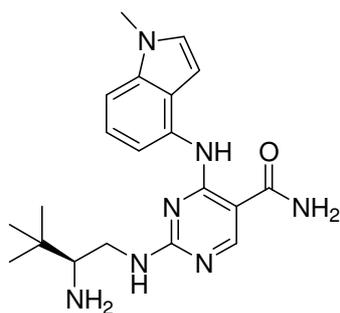
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 222,8, 336,7$.

5 Ejemplo de Referencia 497. 2-((2*R*, 3*R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(2,3-dihidro-1*H*-pirrololo[1,2-*a*]indol-8-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 410,4. UV: $\lambda = 221,6, 335,5$.

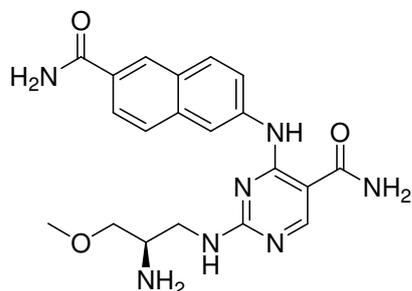
Ejemplo de Referencia 498. (S)-2-(2-amino-3,3-dimetilbutilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

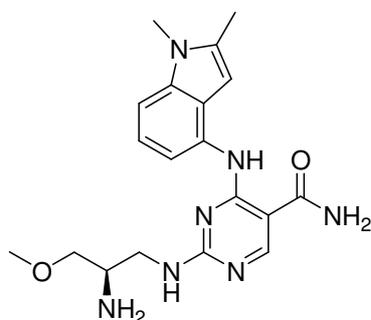
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 382,4. UV: $\lambda = 219,2, 239,3, 327,1$.

Ejemplo de Referencia 499. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(6-carbomoi-naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



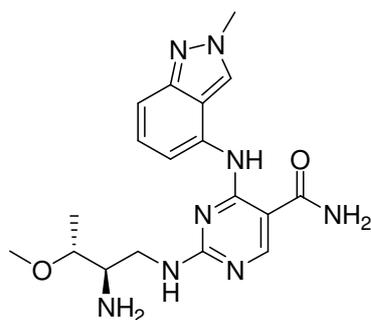
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 410,2. UV: $\lambda = 224,9, 316,2$.

5 Ejemplo de Referencia 500. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1,2-dimetil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



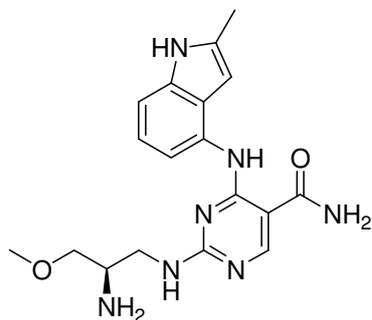
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,4. UV: $\lambda = 223,9$.

10 Ejemplo de Referencia 501. 2-((2*R*,3*R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(2-metil-2*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



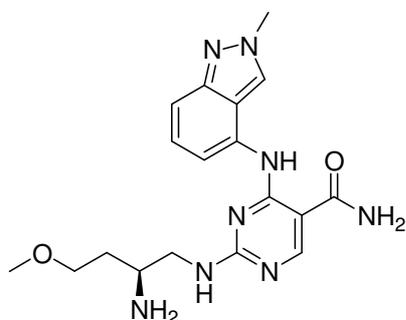
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 385,3. UV: $\lambda = 203,9, 241,6$.

Ejemplo de Referencia 502. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,4. UV: $\lambda = 220,4, 333,1$.

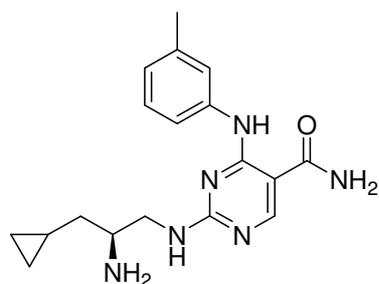
Ejemplo de Referencia 503. (S)-2-(2-amino-4-metoxibutilamino)-4-(2-metil-2H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

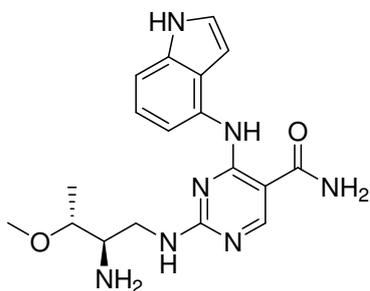
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 385,4. UV: $\lambda = 209,8, 240,4, 283,1, 325,9$.

Ejemplo de Referencia 504. (S)-2-(2-amino-3-ciclopropilpropilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



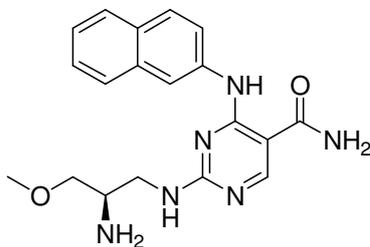
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 341,4. UV: $\lambda = 241,7, 285,9$.

Ejemplo de Referencia 505. 2-((2R,3R)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 370,4. UV: $\lambda = 216,7, 238,1, 324,8$.

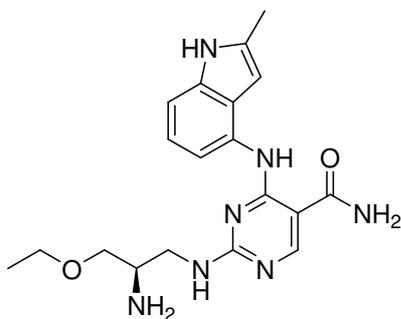
Ejemplo de Referencia 506. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

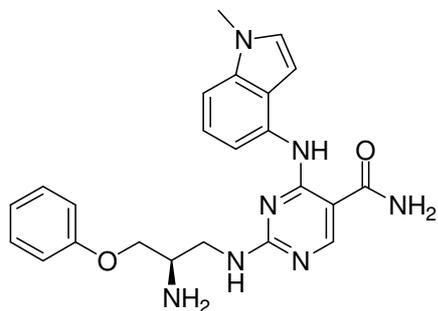
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 367,2. UV: $\lambda = 213,3, 239,3, 305,6$.

Ejemplo de Referencia 507. (R)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(2-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



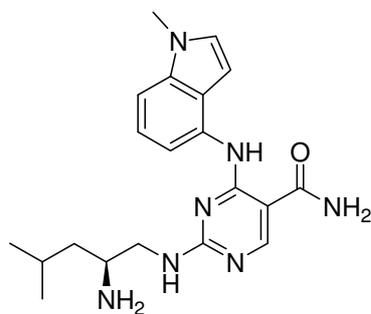
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,4. UV: $\lambda = 220,4, 240,4$.

Ejemplo de Referencia 508. (R)-2-(2-amino-3-fenoxipropilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{23}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 432,4. UV: $\lambda = 218,6, 242,3$.

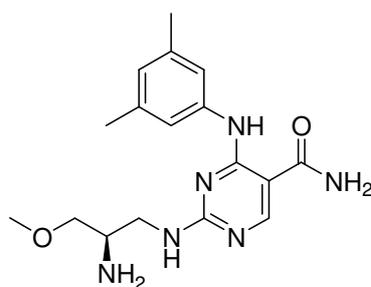
Ejemplo de Referencia 509. (S)-2-(2-amino-4-metilpentilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

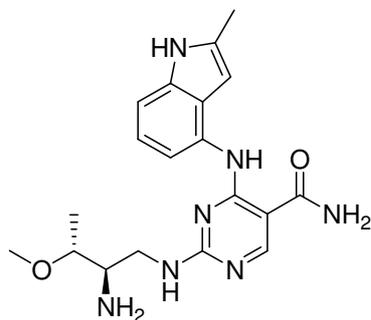
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{27}N_7O$ como $(M+H)^+$ 382,4. UV: $\lambda = 219,8, 241,7$.

Ejemplo de Referencia 510. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



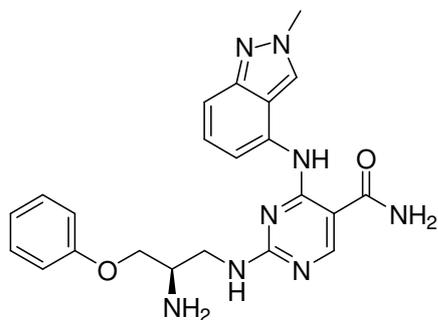
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,4. UV: $\lambda = 240,3, 290,0$.

Ejemplo de Referencia 511. 2-((2R,3R)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{25}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 384,4. UV: $\lambda = 218,0$

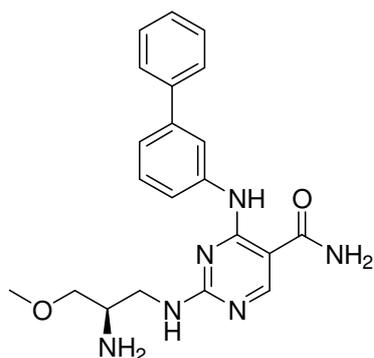
Ejemplo de Referencia 512. (R)-2-(2-amino-3-fenoxipropilamino)-4-(2-metil-2H-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

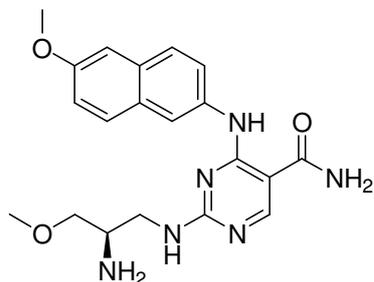
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{22}H_{25}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 433,4. UV: $\lambda = 211,3, 242,3, 330,9$.

Ejemplo de Referencia 513. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



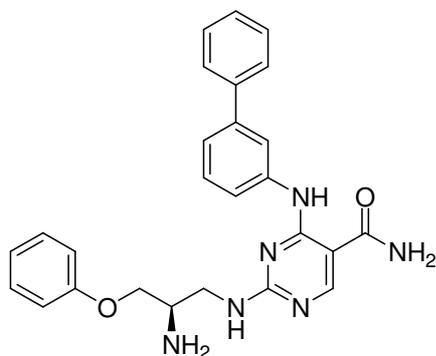
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 393,4. UV: $\lambda = 202,8, 246,3$.

Ejemplo de Referencia 514. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(6-metoxinaftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{24}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 397,0. UV: $\lambda = 221,6, 315,2$.

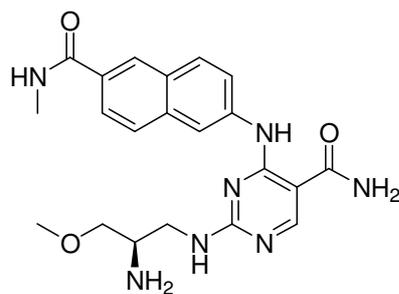
Ejemplo de Referencia 515. (*R*)-2-(2-amino-3-fenoxipropilamino)-4-(bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{26}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 455,4. UV: $\lambda = 203,4, 246,6$.

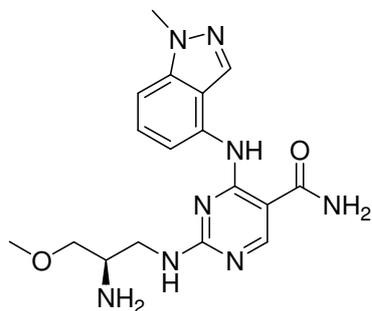
Ejemplo de Referencia 516. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(6-(metilcarbamoilnaftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

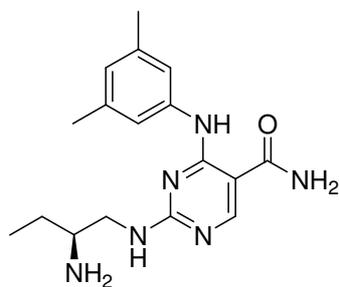
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{25}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 424,4. UV: $\lambda = 222,8, 316,4$.

Ejemplo de Referencia 517. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 371,5. UV: $\lambda = 208,8, 241,7, 316,7$.

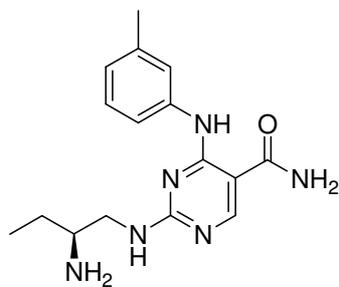
Ejemplo de Referencia 518. (*S*)-2-(2-aminobutilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

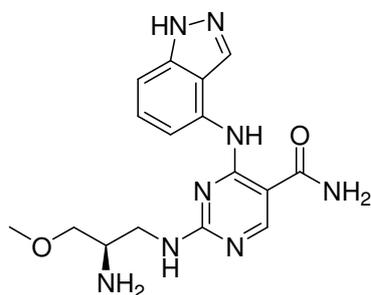
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 329,5. UV: $\lambda = 240,5, 288,4$.

Ejemplo de Referencia 519. (*S*)-2-(2-aminobutilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



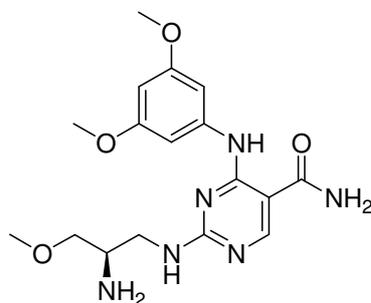
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{16}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 315,4. UV: $\lambda = 241,1, 286,5$.

Ejemplo de Referencia 520. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{20}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 357,3. UV: $\lambda = 206,3, 240,4, 311,6$.

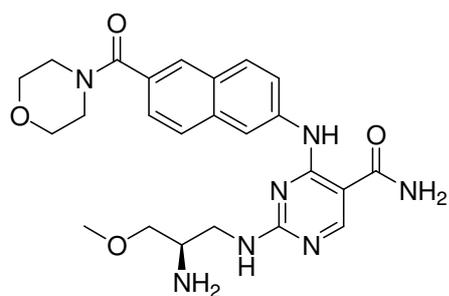
Ejemplo de Referencia 521. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3,5-dimetoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 377,3. UV: $\lambda = 203,8, 235,5, 290,0$.

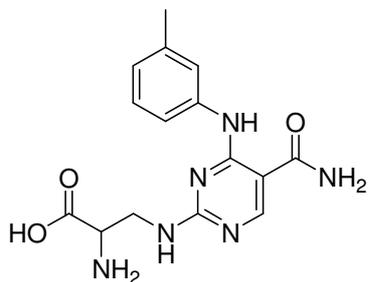
Ejemplo de Referencia 522. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(6-(morfolin-4-carbonil)naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

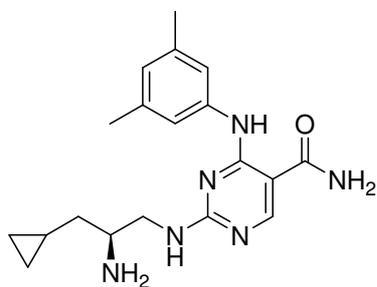
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{24}H_{29}N_7O_4$ como $(M+H)^+$ 480,4. UV: $\lambda = 218,0, 311,6$.

Ejemplo de Referencia 523. Ácido 2-amino-3-(5-carbamoyl)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)propanoico



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{15}H_{18}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 331,1. UV: $\lambda = 239,3, 289,0$.

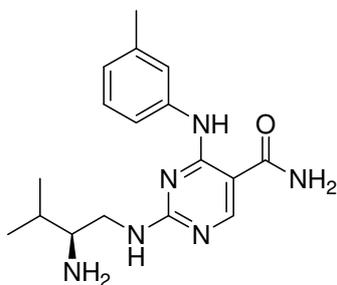
Ejemplo de Referencia 524. (S)-2-(2-amino-3-ciclopropilpropilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

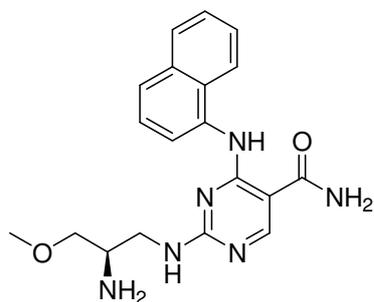
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 355,5. UV: $\lambda = 241,1, 287,7$.

Ejemplo de Referencia 525. (S)-2-(2-amino-3-metilbutilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



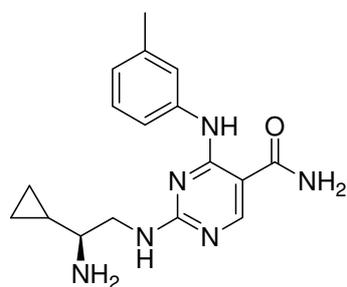
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 329,4. UV: $\lambda = 241,7, 285,9$.

Ejemplo de Referencia 526. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(naftalen-1-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 367,4. UV: $\lambda = 219,2, 282,8$.

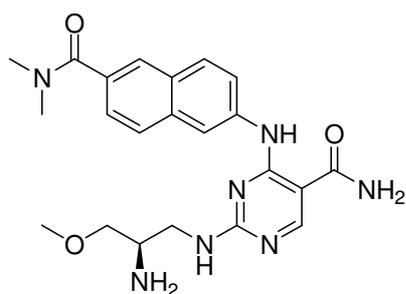
Ejemplo de Referencia 527. (S)-2-(2-amino-2-ciclopropilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O$ como $(M+H)^+$ 327,4. UV: $\lambda = 241,7, 286,5$.

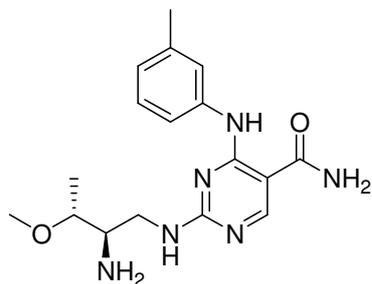
Ejemplo de Referencia 528. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(6-(dimetilcarbamoyl)naftalen-2-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

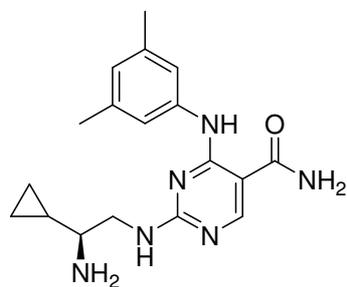
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{22}H_{27}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 438,2. UV: $\lambda = 216,9, 309,2$.

Ejemplo de Referencia 529. 2-((2*R*,3*R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,4. UV: $\lambda = 240,4, 284,2$.

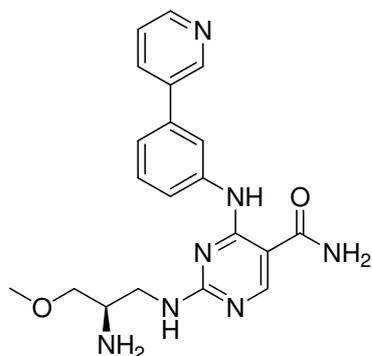
Ejemplo de Referencia 530. (S)-2-(2-amino-2-ciclopropiletilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

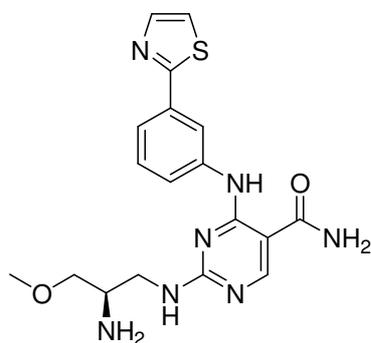
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 341,4. UV: $\lambda = 241,4, 287,7$.

Ejemplo de Referencia 531. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



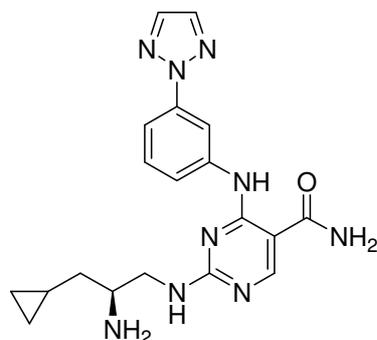
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{23}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV: $\lambda = 242,8$.

Ejemplo de Referencia 532. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(tiazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



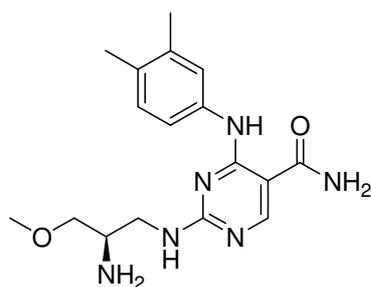
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 400,2. UV: $\lambda = 240,4, 290,2$.

5 Ejemplo de Referencia 533. (S)-2-(2-amino-3-ciclopropilpropilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_9O$ como $(M+H)^+$ 394,4. UV: $\lambda = 204,6, 251,5$.

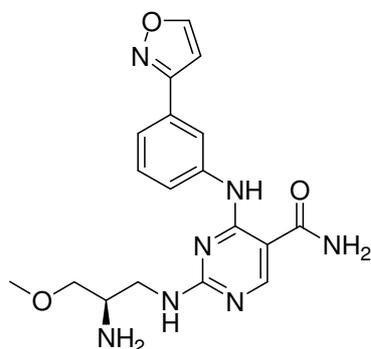
Ejemplo de Referencia 534. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3,4-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

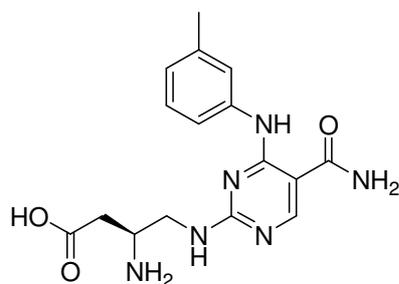
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,5. UV: $\lambda = 239,3, 291,4$.

Ejemplo de Referencia 535. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(isoxazol-3-yl)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 242,3, 285,4$.

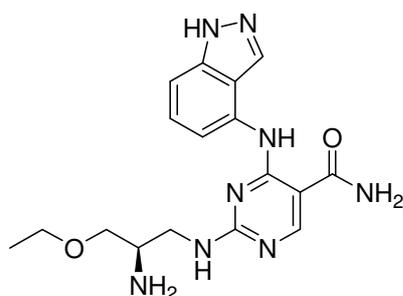
Ejemplo de Referencia 536. Ácido (*S*)-3-amino-4-(5-carbamoyl)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)butanoico



5

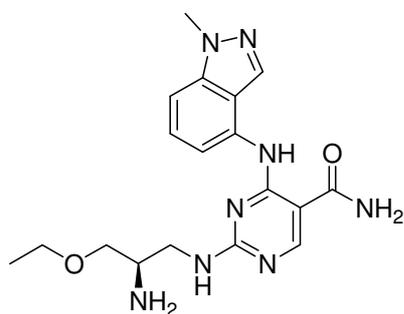
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{16}H_{20}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 345,1. UV: $\lambda = 239,3, 285,4$.

Ejemplo de Referencia 537. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



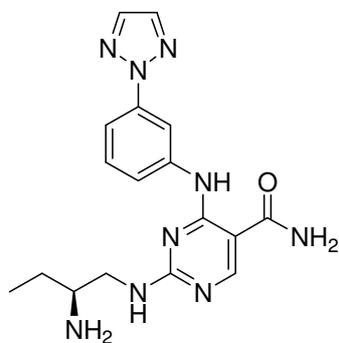
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 371,3. UV: $\lambda = 202,8, 238,1, 308,0$.

Ejemplo de Referencia 538. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 385,3. UV: $\lambda = 208,6, 240,4, 319,9$.

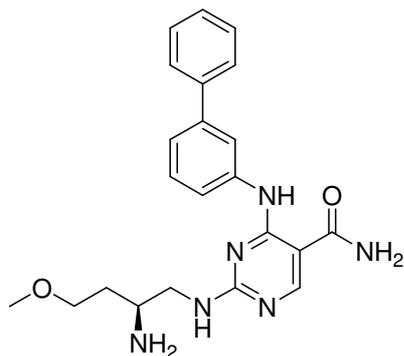
Ejemplo de Referencia 539. (R)-2-(2-aminobutylamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

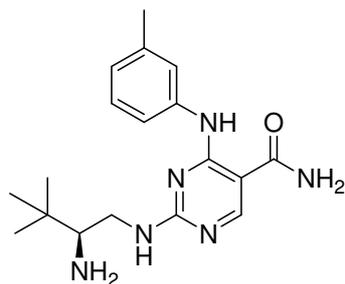
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_5O$ como $(M+H)^+$ 368,4. UV: $\lambda = 203,9, 249,9$.

Ejemplo de Referencia 540. (S)-2-(2-amino-4-metoxibutilamino)-4-(bifenil-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



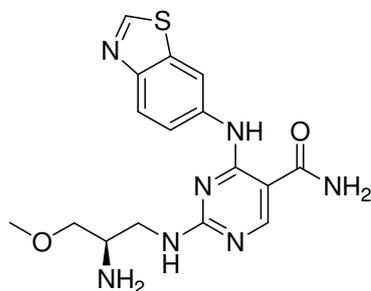
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{22}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 407,4. UV: $\lambda = 202,1, 246,0$.

Ejemplo de Referencia 541. (S)-2-(2-amino-3,3-dimetilbutilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 343,4. UV: $\lambda = 240,5$.

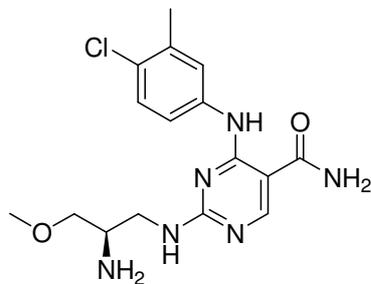
Ejemplo de Referencia 542. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

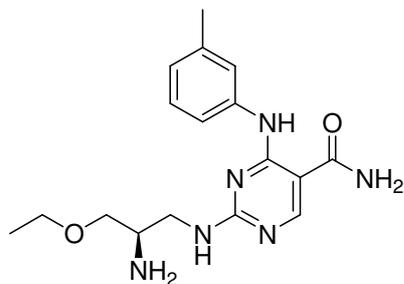
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 374,4. UV: $\lambda = 238,7, 295,1$.

Ejemplo de Referencia 543. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-cloro-3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



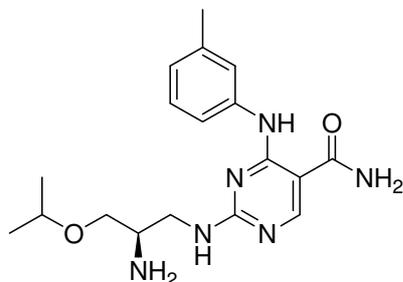
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{21}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 365,2, 367,1 (patrón de Cl). UV: $\lambda = 215,7, 240,4, 289,0$.

Ejemplo de Referencia 544. (*R*)-2-(2-amino-3-etoxipropilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



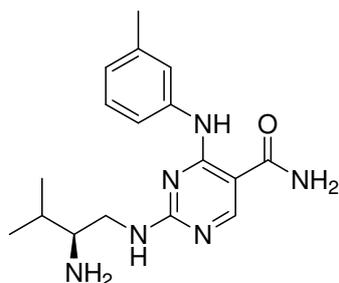
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,6. UV: $\lambda = 238,1, 284,2$.

Ejemplo de Referencia 545. (*R*)-2-(2-amino-3-isopropoxipropilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



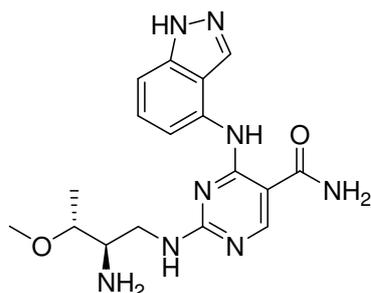
5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{26}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 359,8. UV: $\lambda = 241,6, 286,6$.

Ejemplo de Referencia 546. (*S*)-2-(2-amino-3-metilbutilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



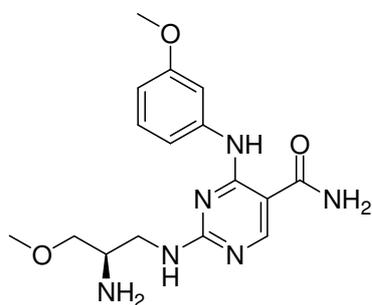
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O$ como $(M+H)^+$ 343,5. UV: $\lambda = 239,9, 284,7$.

Ejemplo de Referencia 547. 2-((2*R*,3*R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



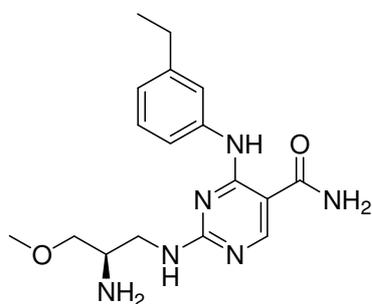
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 371,4. UV: $\lambda = 238,1, 299,7$.

15 Ejemplo de Referencia 548. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-metoxifenil)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{22}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 347,2. UV: $\lambda = 239,7$.

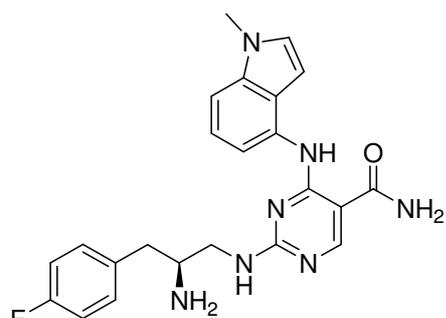
Ejemplo de Referencia 549. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-etilfenil)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,2. UV: $\lambda = 239,3, 286,6$.

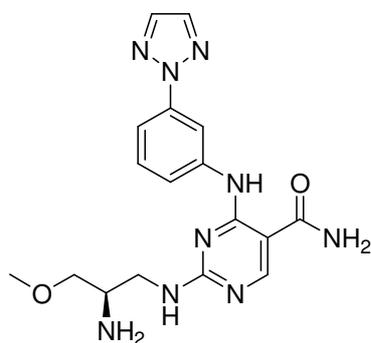
Ejemplo de Referencia 550. (*S*)-2-(2-amino-4-(fluorofenil)propilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



10

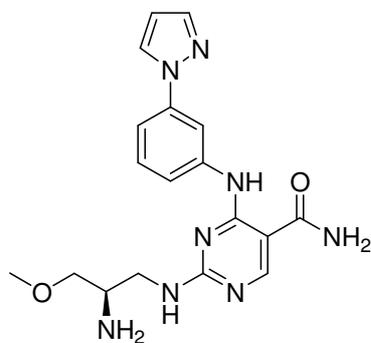
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{23}H_{24}FN_7O$ como $(M+H)^+$ 434,5. UV: $\lambda = 215,5, 241,7, 330,9$.

Ejemplo de Referencia 551. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{21}N_5O_2$ como $(M+H)^+$ 384,3. UV: $\lambda = 249,9$.

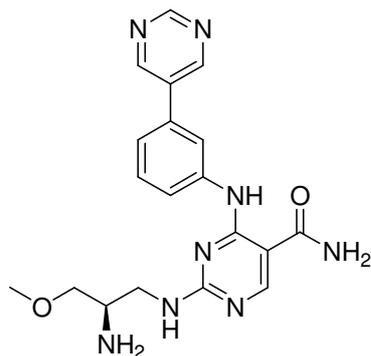
Ejemplo de Referencia 552. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(1*H*-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

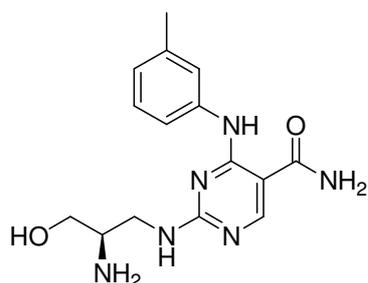
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_5O_2$ como $(M+H)^+$ 383,3. UV: $\lambda = 247,2$.

Ejemplo de Referencia 553. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(pirimidin-5-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



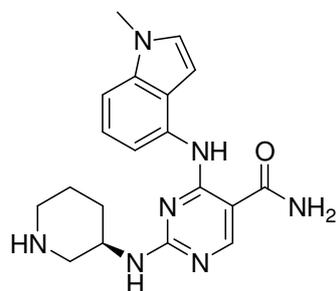
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 395,3. UV: $\lambda = 243,6$.

Ejemplo de Referencia 554. (*R*)-2-(2-amino-3-hidroxipropilamino)-4-(*m*-tolil)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{20}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 317,2. UV: $\lambda = 238,1, 286,6$.

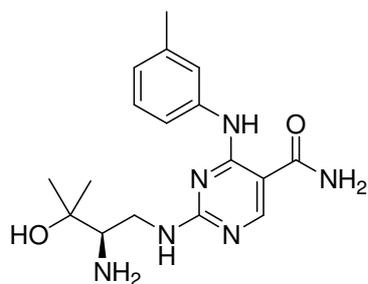
Ejemplo de Referencia 555. (R)-4-(1-metil-1H-indol-4-ilamino)-2-(piperidin-3-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

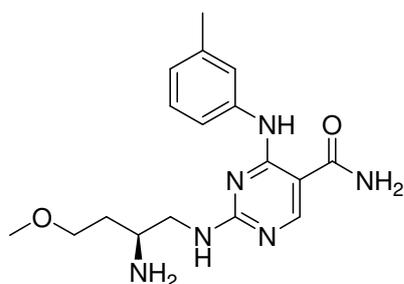
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{23}N_7O$ como $(M+H)^+$ 366,4. UV: $\lambda = 218,0, 241,6, 335,5$.

Ejemplo de Referencia 556. (R)-2-(2-amino-3-hidroxi-3-metilbutilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



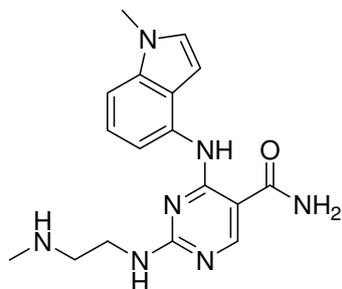
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,2. UV: $\lambda = 239,3$.

Ejemplo de Referencia 557. (S)-2-(2-amino-4-metoxibutilamino)-4-(m-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



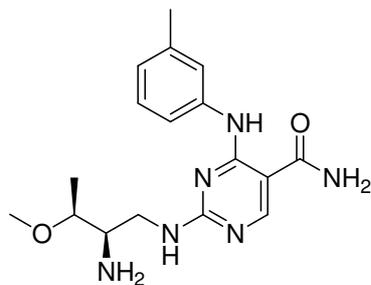
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596.
MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,4. UV: $\lambda = 240,5, 286,5$.

Ejemplo de Referencia 558. 4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)-2-(2-(metilamino)etilamino)pirimidin-5-carboxamida



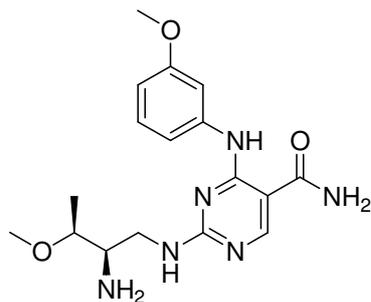
- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218.
MS experimental para $C_{17}H_{21}N_7O$ como $(M+H)^+$ 340,4. UV: $\lambda = 220,4, 239,3$.

Ejemplo de Referencia 559. 2-((2*R*,3*S*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(*m*-tolil)pirimidin-5-carboxamida



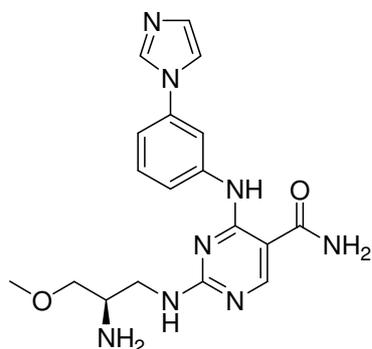
- 10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596.
MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 345,2. UV: $\lambda = 239,3, 285,4$.

Ejemplo de Referencia 560. 2-((2*R*,3*S*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(3-metoxifenil)pirimidin-5-carboxamida



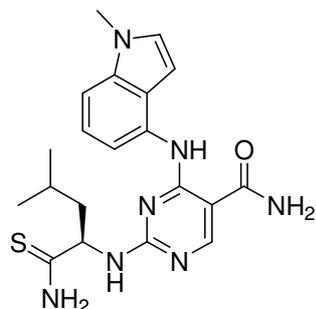
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596.
MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 361,2. UV: $\lambda = 239,3$.

- 15 Ejemplo de Referencia 561. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-(1*H*-imidazol-1-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



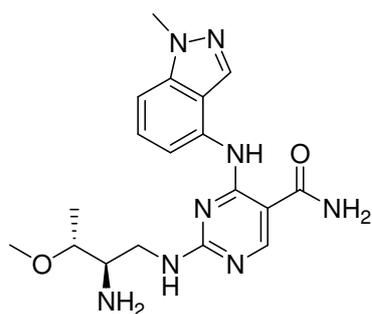
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 383,5. UV: $\lambda = 238,1, 281,9$.

5 Ejemplo de Referencia 562. (*R*)-2-(1-amino-4-metil-1-tioxopentan-2-ilamino)-4-(1-metil-1*H*-indol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



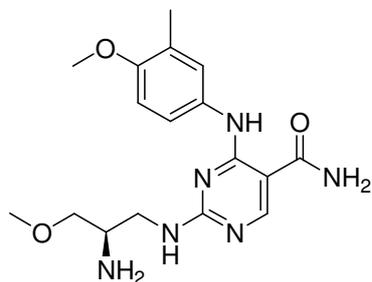
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 318. MS experimental para $C_{20}H_{25}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 412,4. UV: $\lambda = 250,3$.

10 Ejemplo de Referencia 563. 2-((2*R*,3*R*)-2-amino-3-metoxibutilamino)-4-(1-metil-1*H*-indazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



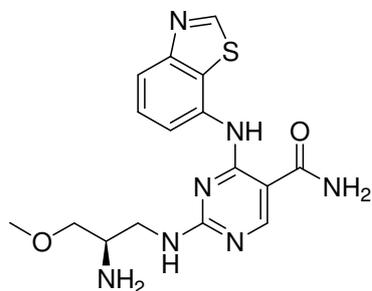
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{24}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 385,3. UV: $\lambda = 208,6, 240,4, 311,6$.

Ejemplo de Referencia 564. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-metoxi-3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 361,2. UV: $\lambda = 238,1, 292,6$.

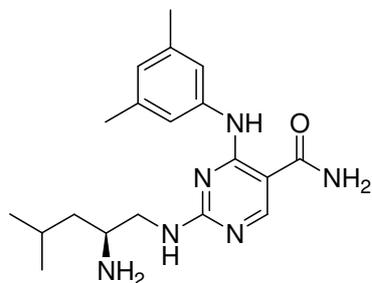
Example de Referencia 565. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(benzo[d]tiazol-7-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

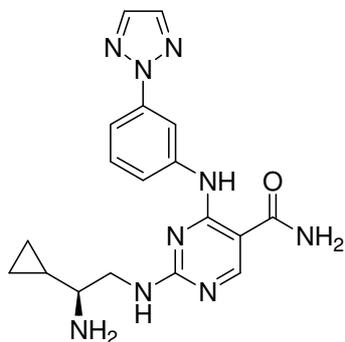
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 374,3. UV: $\lambda = 232,6, 287,8$.

Ejemplo de Referencia 566. (*S*)-2-(2-amino-4-metilpentilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



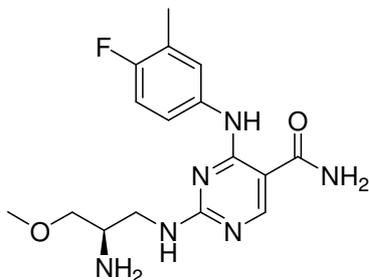
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{28}N_6O$ como $(M+H)^+$ 357,4. UV: $\lambda = 239,3, 287,8$.

Ejemplo de Referencia 567. (*S*)-2-(2-amino-2-ciclopropiletilamino)-4-(3-(2*H*-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_9O$ como $(M+H)^+$ 380,4. UV: $\lambda = 204,6, 250,9$.

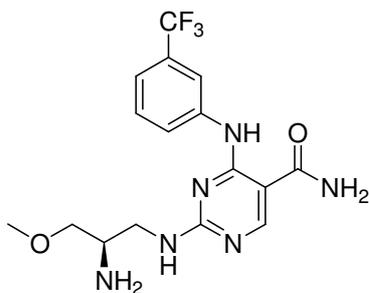
Ejemplo de Referencia 568. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-fluoro-3-metilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

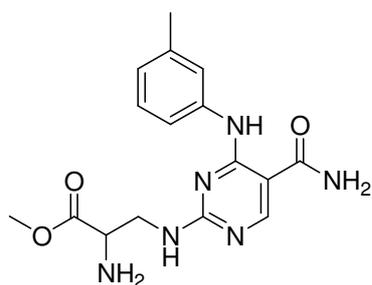
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{21}FN_6O_2$ como $(M+H)^+$ 349,0. UV: $\lambda = 211,0, 239,3$.

Ejemplo de Referencia 569. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-trifluorometilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



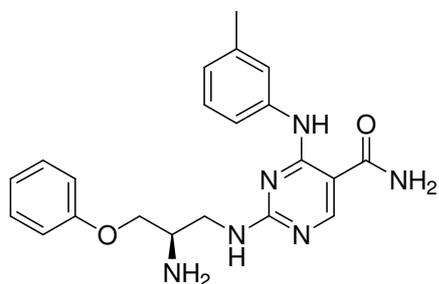
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{19}F_3N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 385,2. UV: $\lambda = 242,8$.

Ejemplo de Referencia 570. 2-Amino-3-(5-carbamoyl)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-2-ilamino)propanoato de metilo



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{16}H_{20}N_6O_3$ como $(M+H)^+$ 345,1. UV: $\lambda = 238,1, 290,2$.

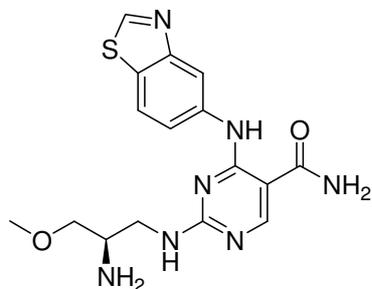
Ejemplo de Referencia 580. (*R*)-2-(2-amino-3-fenoxipropilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

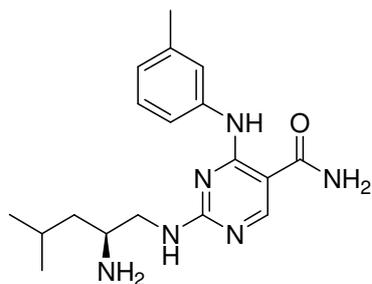
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{21}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$. UV: $\lambda = 213,3, 239,3$.

Ejemplo de Referencia 581. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



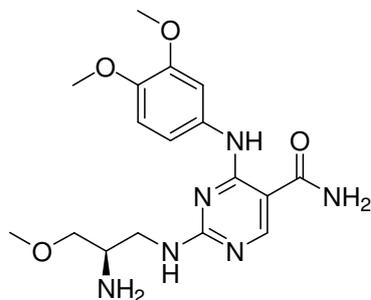
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_7O_2S$ como $(M+H)^+$ 374,3. UV: $\lambda = 243,6, 292,1$.

Ejemplo de Referencia 582. (*S*)-2-(2-amino-4-metilpentilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



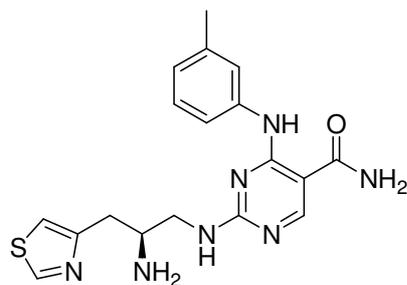
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{26}N_6O$ como $(M+H)^+$ 343,4. UV: $\lambda = 239,3, 285,4$.

Ejemplo de Referencia 583. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3,4-dimetoxifenilamino)pirimidin-5-carboxamida



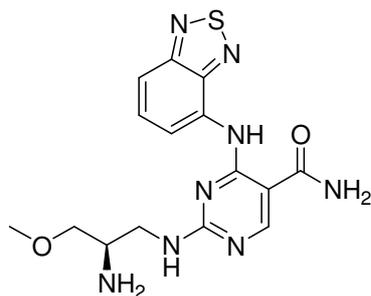
- 5 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 377,1. UV: $\lambda = 235,7, 285,4$.

Ejemplo de Referencia 584. (S)-2-(2-amino-3-(tiazol-4-il)propilamino)-4-(*m*-tolilamino)pirimidin-5-carboxamida



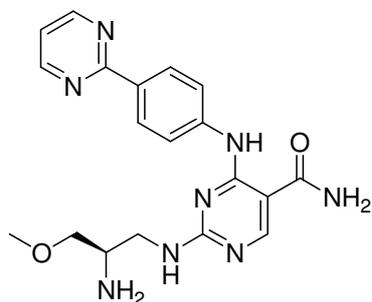
- 10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{18}H_{21}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 384,1. UV: $\lambda = 240,4, 287,8$.

Ejemplo de Referencia 585. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(benzo[*c*][1,2,5]tiadiazol-4-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



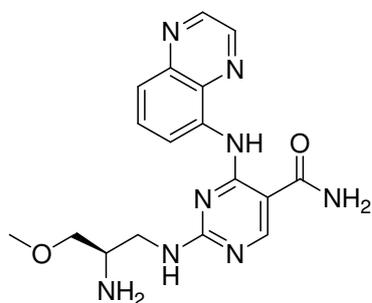
- 15 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{15}H_{18}N_8O_2S$ como $(M+H)^+$ 375,2. UV: $\lambda = 235,7, 315,2$.

Ejemplo de Referencia 586. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{19}H_{22}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 395,4. UV: $\lambda = 230,1, 311,2$.

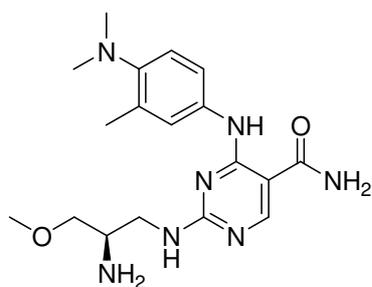
Ejemplo de Referencia 587. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(quinoxalin-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



5

El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{20}N_8O_2$ como $(M+H)^+$ 369,2. UV: $\lambda = 245,4$.

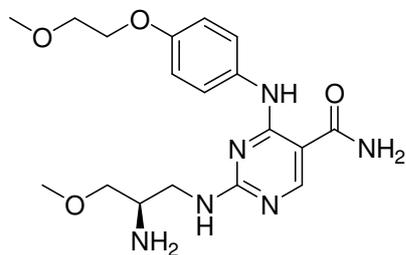
Ejemplo de Referencia 588. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-(dimetilamino)-3-metilfenililamino)pirimidin-5-carboxamida



10

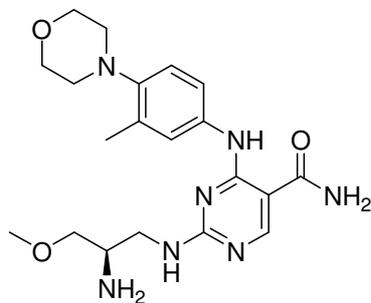
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{27}N_7O_2$ como $(M+H)^+$ 374,3.

Ejemplo de Referencia 589. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(4-(2-metoxietoxi)fenililamino)pirimidin-5-carboxamida



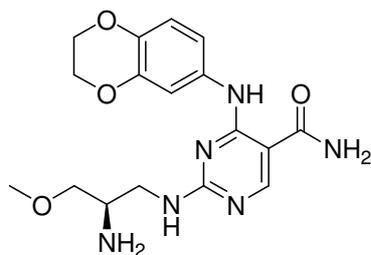
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{18}H_{26}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 391,4. UV: $\lambda = 202,8, 239,9, 282,2$.

5 Ejemplo de Referencia 590. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(3-metil-4-morfolinofenililamino)pirimidin-5-carboxamida



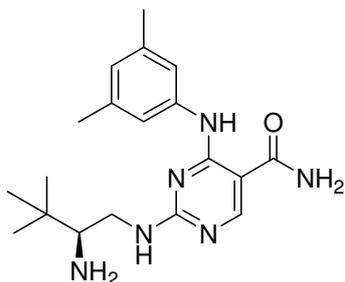
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{20}H_{29}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 416,2. UV: $\lambda = 238,1, 293,8$.

10 Ejemplo de Referencia 591. (*R*)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



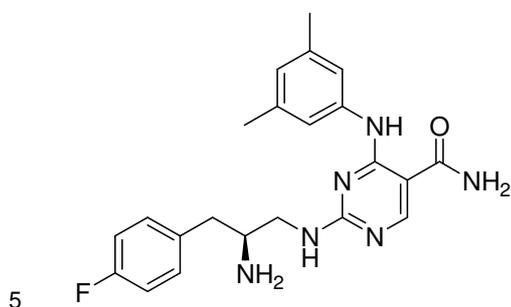
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{22}N_6O_4$ como $(M+H)^+$ 375,3. UV: $\lambda = 239,3, 292,7$.

Ejemplo de Referencia 592. (*S*)-2-(2-amino-3,3-dimetilbutilamino)-4-(3,5-dimetilfenililamino)pirimidin-5-carboxamida



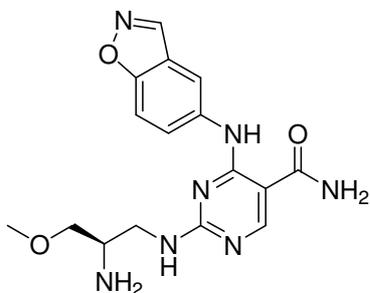
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{19}H_{28}N_6O$ como $(M+H)^+$ 357,4. UV: $\lambda = 240,4$.

Ejemplo de Referencia 593. (S)-2-(2-amino-4-(4-fluorofenil)propilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



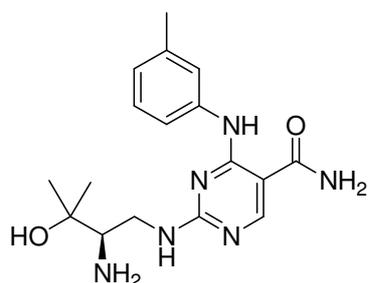
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $C_{22}H_{25}FN_6O$ como $(M+H)^+$ 409,4. UV: $\lambda = 241,7, 288,4$.

Ejemplo de Referencia 594. (R)-2-(2-amino-3-metoxipropilamino)-4-(benzo[d]isoxazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



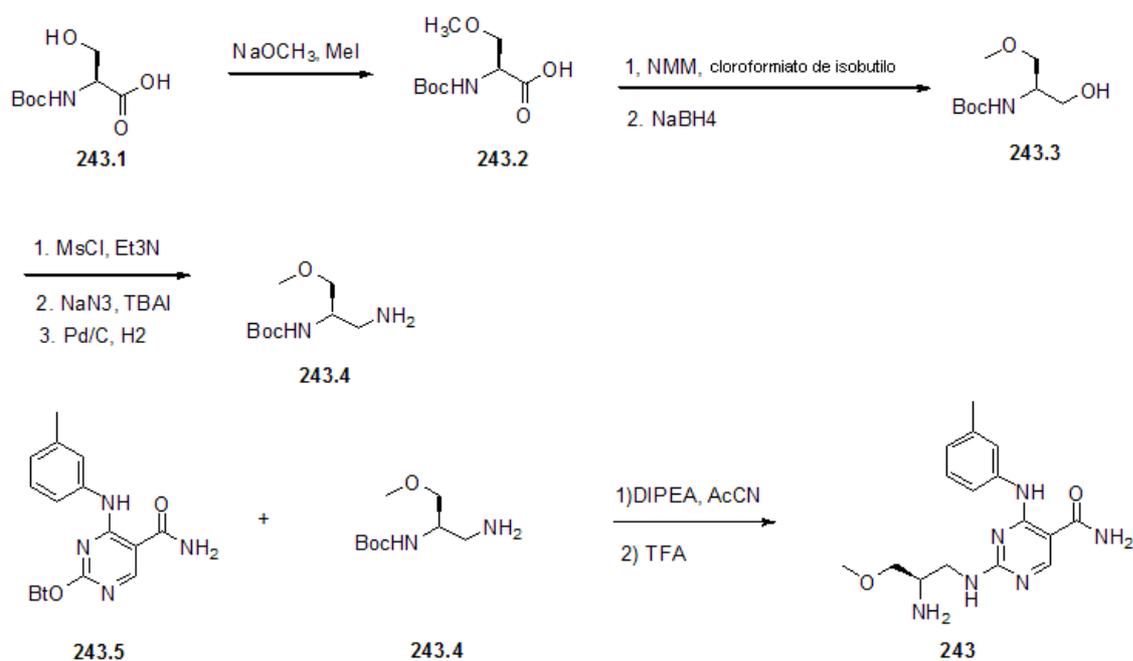
10 El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{16}H_{19}N_7O_3$ como $(M+H)^+$ 358,3. UV: $\lambda = 203,9, 235,7, 292,6$.

Ejemplo de Referencia 595. (R)-2-(2-amino-3-hidroxi-3-metilbutilamino)-4-(3,5-dimetilfenilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 596. MS experimental para $C_{17}H_{24}N_6O_2$ como $(M+H)^+$ 359,2. UV: $\lambda = 239,3$.

Ejemplo de Referencia 596



5

Síntesis de 243.2: A una suspensión de NaH (6g, 0,25 mol) en THF (220 mL) a $0^{\circ}C$ se añadió MeOH (18 mL) gota a gota, la mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 h y la solución resultante se usó a continuación.

A una solución de N-Boc L-serina **243.1** (6 g, 0,029 mol) en THF (300 mL) se añadió 120 mL de la solución anterior y Mel (3 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, se añadió la solución anterior restante, seguido de más Mel (6 mL) y la mezcla se agitó durante 18 h más. La mezcla se concentró al vacío para eliminar el THF, el residuo se disolvió en agua; la solución acuosa se lavó con éter y se acidificó con ácido cítrico hasta pH 2. La solución acuosa acidificada se extrajo con EtOAc (3X), la capa de EtOAc se combinó, se lavó con $Na_2S_2O_3$ diluido, salmuera, se secó y se concentró para dar una mezcla de **243.2** y se recuperó **243.1**. El residuo se extrajo en H_2O (100 mL) y se extrajo con DCM (3X). La capa de DCM se combinó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío para dar **243.2** en forma de un aceite amarillo pálido (3,2 g).

15

Síntesis de 243.3: A una solución de **243.2** (3,2 g, 14,60 mmoles) en THF (20 mL) a $-15^{\circ}C$ se añadió N-metilmorfolina (1,60 mL, 14,60 mmoles) y cloroformiato de isobutilo (1,91 mL, 14,60 mmoles). Después de agitar durante 5 min a $-15^{\circ}C$, a la mezcla se añadió una solución de borhidruro de sodio (1,66 g, 43,8 mmoles) en agua (7 mL) lentamente (evolución de gas). La mezcla se mantuvo bajo agitación a $-15^{\circ}C$ durante 10 min y se diluyó con EtOAc, las capas orgánicas se lavaron con agua, $NaHCO_3$ saturado, salmuera, se secaron y se concentraron para dar el residuo crudo, que se purificó por columna (Hex/EtOAc = 2:1 a 2:3) para dar **243.3** (2,1 g, 70%).

20

Síntesis de 243.4: A una solución de **243.3** (2,1 g, 10,24 mmoles) en DCM (30 mL) a 0°C se añadió Trietilamina (2,15 mL, 15,36 mmoles) y cloruro de metanosulfonilo (1,19 mL, 15,36 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 30 min, se diluyó con DCM, las capas orgánicas se lavaron con agua, NaHCO₃ saturado, salmuera, se secaron y se concentraron para dar mesilato crudo.

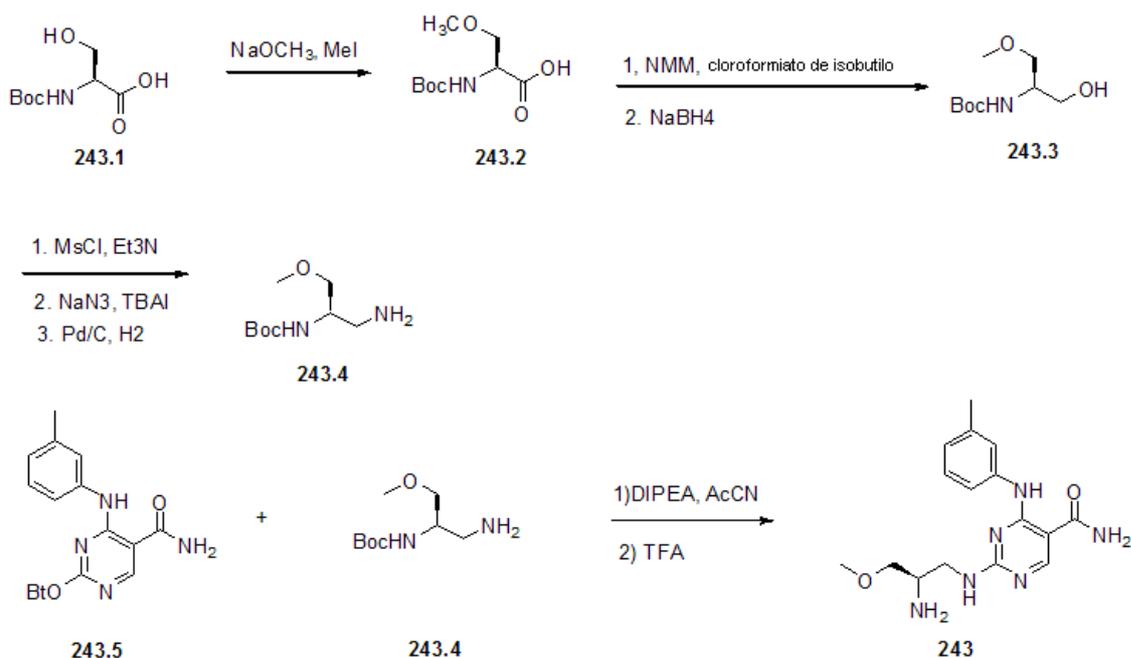
5 A una solución del mesilato crudo anterior en DMF (20 mL) se añadió NaN₃ (1,95 g, 30,72 mmoles) y TBAI (37 mg, 0,124 mmoles). Después de calentar a 75°C durante 2 h, se diluyó con EtOAc, las capas orgánicas se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron para dar azida cruda (1,7 g).

10 A una solución de la azida cruda anterior (1,7 g) en EtOAc (16 mL) se añadió Pd/C (400 mg) y se cargó con H₂ (1 atm). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 h, el Pd/C se eliminó por filtración y el filtrado se concentró para dar **243.4** (1,5 g).

Síntesis de 243: A una muestra sólida de **243.5** (0,76 g, 2,1 mmoles) en tubo sellado se añadió una solución de **243.4** (0,75 g, 3,68 mmoles) en AcCN (8,5 mL). Después de calentar a 65°C durante 5 h, la mezcla se enfrió y se añadió agua (40 mL). Los precipitados se recogieron por filtración para dar el producto de acoplamiento (0,85 g).

15 A una suspensión del producto de acoplamiento anterior (0,85 g) en DCM (6 mL) se añadió TFA (2 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 min, la mezcla se concentró y el residuo se purificó por HPLC preparativa para dar F (0,99 g) en forma de sal de TFA.

Ejemplo de Referencia 597



20 **Síntesis de 243.2:** A una suspensión de NaH (6 g, 0,25 mol) en THF (220 mL) a 0°C se añadió MeOH (18 mL) gota a gota, la mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 h y la solución resultante se usó a continuación.

25 A una solución de N-Boc L-serina **243.1** (6 g, 0,029 moles) en THF (300 mL) se añadieron 120 mL de la solución anterior y MeI (3 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, el resto de la solución anterior se añadió, seguido de más MeI (6 mL) y la mezcla se agitó durante 18 h más. La mezcla luego se concentró al vacío para eliminar el THF, el residuo se disolvió en agua; la solución acuosa se lavó con éter y se acidificó con ácido cítrico hasta pH 2. La solución acuosa acidificada se extrajo con EtOAc (3X), la capa de EtOAc se combinó, se lavó con Na₂S₂O₃ diluido, salmuera, se secó y se concentró para dar una mezcla de **243.2** y se recuperó **243.1**. El residuo se extrajo en H₂O (100 mL) y se extrajo con DCM (3X). La capa de DCM se combinó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para dar **243.2** en forma de un aceite amarillo pálido (3,2 g).

Síntesis de 243.3: A una solución de **243.2** (3,2 g, 14,60 mmoles) en THF (20 mL) a -15°C se añadió N-metilmorfolina (1,60 mL, 14,60 mmoles) y cloroformiato de isobutilo (1,91 mL, 14,60 mmoles). Después de agitar durante 5 min a -15°C , a la mezcla se añadió una solución de borohidruro de sodio (1,66 g, 43,8 mmoles) en agua (7 mL) lentamente (evolución de gas). La mezcla se mantuvo bajo agitación a -15°C durante 10 min y se diluyó con EtOAc, las capas orgánicas se lavaron con agua, NaHCO_3 sat., salmuera, se secó y se concentró para dar el residuo crudo, que se purificó por columna (Hex/EtOAc = 2:1 a 2:3) para dar **243.3** (2,1 g, 70%).

Síntesis de 243.4: A una solución de **243.3** (2,1 g, 10,24 mmoles) en DCM (30 mL) a 0°C se añadió Trietilamina (2,15 mL, 15,36 mmoles) y cloruro de metanosulfonilo (1,19 mL, 15,36 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 30 min, se diluyó con DCM, las capas orgánicas se lavaron con agua, NaHCO_3 saturado, salmuera, se secaron y se concentraron para dar mesilato crudo.

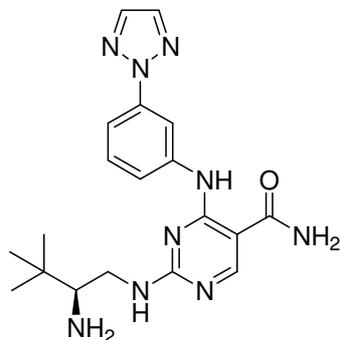
A una solución del mesilato crudo anterior en DMF (20 mL) se añadió NaN_3 (1,95 g, 30,72 mmoles) y TBAI (37 mg, 0,124 mmoles). Después de calentar a 75°C durante 2 h, se diluyó con EtOAc, las capas orgánicas se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron para dar azida cruda (1,7 g).

A una solución de la azida cruda anterior (1,7 g) en EtOAc (16 mL) se añadió Pd/C (400 mg) y se cargó con H_2 (1 atm). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 h, el Pd/C se eliminó por filtración y el filtrado se concentró para dar **243.4** (1,5 g).

Síntesis de 243: A una muestra sólida de **243.5** (0,76 g, 2,1 mmoles) en tubo sellado se añadió una solución de **243.4** (0,75 g, 3,68 mmoles) en AcCN (8,5 mL). Después de calentar a 65°C durante 5 h, la mezcla se enfrió y se añadió agua (40 mL). Los precipitados se recogieron por filtración para dar el producto de acoplamiento (0,85 g).

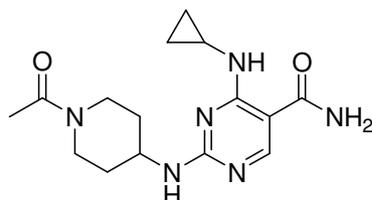
A una suspensión del producto de acoplamiento anterior (0,85 g) en DCM (6 mL) se añadió TFA (2 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 min, la mezcla se concentró y el residuo se purificó por HPLC preparativa para dar F (0,99 g) en forma de sal de TFA.

Ejemplo de Referencia 598. (S)-2-(2-amino-2-ciclopropiletilamino)-4-(2-amino-3,3-dimetilbutilamino)pirimidin-5-carboxamida

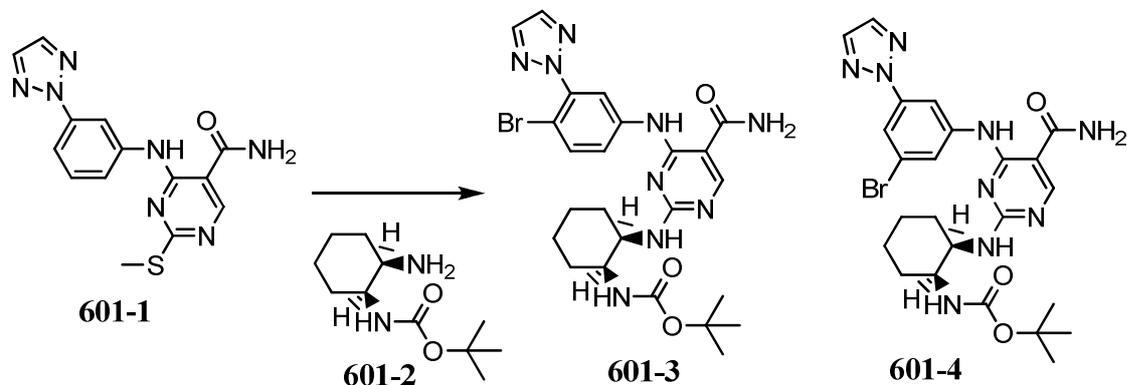


El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_9\text{O}$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 396,4. UV: $\lambda = 248,7$.

Ejemplo de Referencia 599. 2-(1-acetilpiperidin-4-ilamino)-4-(ciclopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



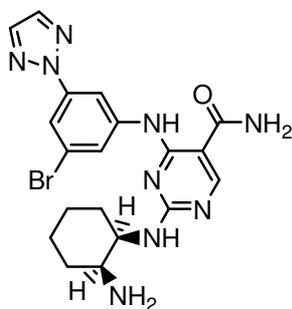
El compuesto del título se preparó usando el mismo esquema de síntesis demostrado en el Ejemplo de Referencia 218. MS experimental para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_2$ como $(\text{M}+\text{H})^+$ 319,4. UV: $\lambda = 238,7$.



5 El compuesto 601-1 (150 mg, 0,46 mmoles) se disolvió en 15 mL de DMF. A ello se añadió N-bromosuccinimida (NBS, 122 mg, 0,69 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 min. Todo el compuesto 601-1 se había convertido así en el correspondiente sulfóxido. A ello se añadió nuevamente N-bromosuccinimida (122 mg, 0,69 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A ello se añadieron DIEA (0,4 mL, 2,3 mmoles) y compuesto 601-2 (200 mg, 0,92 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 3 h para dar los productos 601-3 y 601-4 en la relación de 4:1. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x3, se secó, se concentró y se sometió a columna flash para aislar el compuesto 601-3 y compuesto 601-4.

10 El compuesto 601-3 se trató con 1:1 TFA y DCM a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}BrN_9O$ como $(M+H)^+$ 472,3, 474,3. $\lambda=246, 294$ nm.

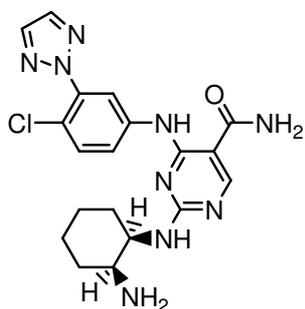
Ejemplo 602: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-bromo-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



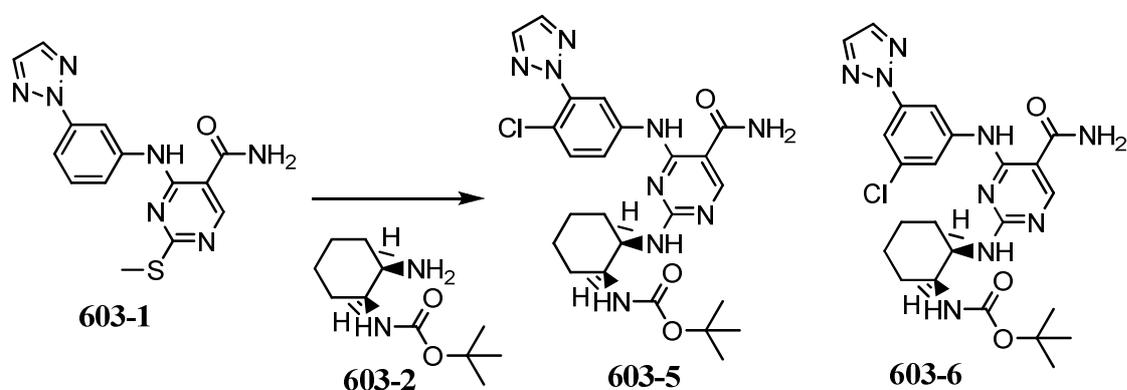
15

El compuesto 602-1 (tal como se preparó en el Ejemplo 601) se trató con 1:1 TFA y DCM a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}BrN_9O$ como $(M+H)^+$ 472,3, 474,3. $\lambda=253, 272$ nm.

Ejemplo 603: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-cloro-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



Esquema:



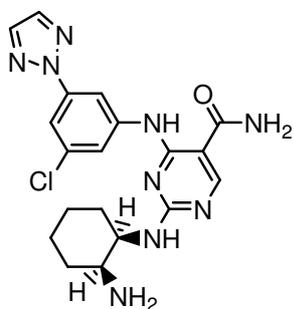
5

El compuesto 603-1 (150 mg, 0,46 mmoles) se disolvió en 15 mL de DMF. A ello se añadió N-clorosuccinimida (NCS, 300 mg, 2,2 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 80 min. A ello se añadieron DIEA (0,4 mL, 2,3 mmoles) y compuesto 603-2 (200 mg, 0,92 mmoles). La mezcla se agitó a 90°C durante 2 h para dar los productos 603-5 y 603-6 en la relación de 2,6:1. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera x3, se secó, se concentró y se sometió a columna flash para aislar el compuesto 603-5 y compuesto 603-6.

10

El compuesto 603-5 se trató con TFA a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 30 m a temperatura ambiente. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}ClN_9O$ como $(M+H)^+$ 428,3. $\lambda=246, 291$ nm.

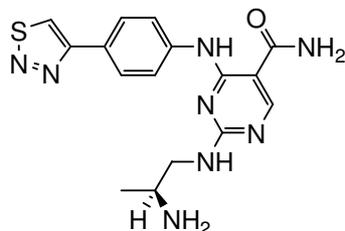
Ejemplo 604: 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-cloro-5-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



15

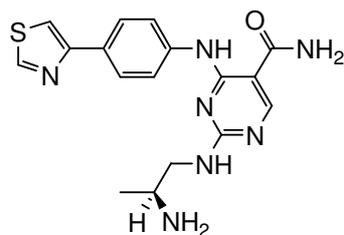
El compuesto 604-6 (tal como se preparó en el Ejemplo 603) se trató con TFA a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 30 m a temperatura ambiente. Se concentró y se sometió a HPLC en fase inversa para aislar el compuesto del título. MS experimental para $C_{19}H_{22}ClN_9O$ como $(M+H)^+$ 428,3. $\lambda=252$ nm.

Ejemplo de Referencia 605: (S)-4-(4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)fenilamino)-2-(2-aminopropilamino)pirimidin-5-carboxamida



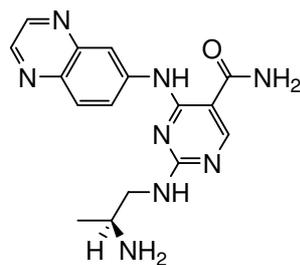
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 424. UV $\lambda=230$, 306 nm. MS experimental para $C_{16}H_{18}N_8OS$ como $(M+H)^+$ 371,3. RMN (CD_3OD): δ 9,23 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,15 (m, 2H), 7,81 (m, 2H), 3,70 (m, 2H), 3,46 (m, 1H), 1,32 (d, J=6,8 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo de Referencia 606: (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(4-(tiazol-4-il)fenilamino)pirimidin-5-carboxamida



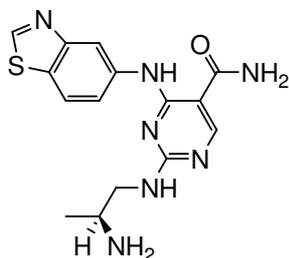
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 424. UV $\lambda=238$, 311 nm. MS experimental para $C_{17}H_{19}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 370,3. RMN (CD_3OD): δ 9,05 (d, J=2,0 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,00 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,89 (s, 1H), 7,70 (d, J=7,2 Hz, 2H), 3,70 (m, 2H), 3,47 (m, 1H), 1,30 (d, J=6,0 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo de Referencia 607 (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(quinoxalin-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



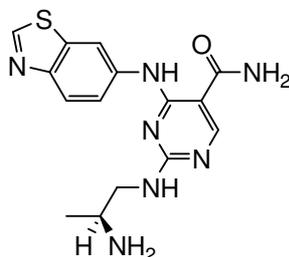
El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 424. UV $\lambda=242$, 273 nm. MS experimental para $C_{16}H_{18}N_8O$ como $(M+H)^+$ 339,3. RMN (CD_3OD): δ 8,85 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,10 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,84 (d, J=8,4 Hz, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,62 (m, 1H), 1,38 (d, J=6,0 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo de Referencia 608 (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(benzo[d]tiazol-5-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 424. UV $\lambda=246$, 291 nm. MS experimental para $C_{15}H_{17}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 344,3. RMN (CD_3OD): δ 9,34 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,11 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,52(d, $J=8,8$ Hz, 1H), 3,78-3,54 (m, 3H), 1,29 (d, $J=6,4$ Hz, 3H) ppm.

5 Ejemplo de Referencia 609 (S)-2-(2-aminopropilamino)-4-(benzo[d]tiazol-6-ilamino)pirimidin-5-carboxamida



El compuesto del título se preparó usando la misma química mostrada para el Ejemplo de Referencia 424. UV $\lambda=241$, 297 nm. MS experimental para $C_{15}H_{17}N_7OS$ como $(M+H)^+$ 344,3. RMN (CD_3OD): δ 9,24 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,10 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,72(d, $J=8,8$ Hz, 1H), 3,71-3,44 (m, 3H), 1,23 (d, $J=6,4$ Hz, 3H) ppm.

10 Ejemplo 610

En este ejemplo se ilustran métodos para evaluar los compuestos de la invención, junto con los resultados obtenidos para tales ensayos. Las actividades *in vitro* e *in vivo* del syk humano de los compuestos inventivos pueden determinarse mediante diversos procedimientos conocidos en la técnica, tales como un ensayo para establecer su capacidad de inhibir la actividad del syk del plasma humano. Las actividades potentes para la inhibición del syk humano presentadas por los compuestos inventivos pueden medirse mediante un valor de CI_{50} (expresado en nM). El valor de CI_{50} es la concentración (expresada en nM) del compuesto, requerida para proveer una inhibición del 50% de la actividad proteolítica del syk humano. Cuanto más pequeño sea el valor de CI_{50} , tanto más activo (potente) es un compuesto en cuanto a su actividad para inhibir el syk.

Un ensayo *in vitro* para detectar y medir la actividad de la inhibición frente a syk es como sigue:

20 Inhibición de la actividad de fosforilación de tirosina de syk

La potencia de las moléculas candidato para inhibir la actividad de fosforilación de tirosina de syk se evalúa midiendo la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la fosforilación de tirosina mediada por syk de un sustrato específico de syk.

25 La actividad de fosforilación de tirosina de SYK se mide mediante la Tecnología LANCE™ desarrollada por Perkin Elmer Life and Analytical Sciences (Boston, MA). LANCE™ se refiere a aplicaciones de fluorimetría homogénea en tiempo resuelto, por lo cual se utilizan técnicas tales como ensayo de transferencia de energía resonante de fluorescencia en tiempo resuelto (TR-FRET, time-resolved fluorescence resonance energy transfer assay) (para los procedimientos en general, véase: Perkin Elmer Application Note- How to Optimize a Tyrosine Kinase Assay Using Time Resolved Fluorescence-Based LANCE Detection, www.perkinelmer.com/lifesciences). El principio del ensayo implica la detección
30 de un sustrato fosforilado que utiliza transferencia de energía desde un anticuerpo marcado con europio fosfoespecífico a estreptavidina-alofocianina como un aceptor.

Para ensayar la capacidad de las moléculas candidato para inhibir la actividad de fosforilación de tirosina de SYK, se reconstituyen las moléculas en DMSO al 30%, y se diluyen de forma seriada 1:3 con la dilución final que contiene DMSO en ausencia de la molécula candidato. La concentración final del DMSO en el ensayo es del 3%. Los ensayos de quinasa se llevan a cabo como una reacción de dos partes. La primera reacción es una reacción de quinasa y que comprende una molécula candidato, la enzima SYK recombinante activa de longitud completa (Millipore, CA) y sustrato biotina-DEEDYESP-OH específico de SYK marcado con biotina. La segunda reacción implica la terminación de la reacción de la quinasa y la adición simultánea de los reactivos de detección - el reactivo anti-fosfotirosina marcado con europio (Eu-W1024-PY100, Perkin Elmer, Boston, MA) y el reactivo de detección estreptavidina-alofococianina (SA-APC, Prozyme, CA). La reacción de la quinasa se lleva a cabo en una placa de microtitulación de 96 pocillos, negra, con fondo en "U". El volumen final de la reacción es de 50 μ L y contiene una concentración final de 1 nM de enzima SYK activa, 550 nM de sustrato SYK, y 100 μ M de ATP diluido en un tampón que contiene Tris 50 mM pH 7,5, $MgCl_2$ 5 mM, y DTT 1mM. Se permite que la reacción continúe durante 1 hora a temperatura ambiente. El tampón de parada contiene Tris 100 mM pH 7,5, $NaCl_2$ 300 mM, EDTA 20 mM, Brij35 al 0.02%, y BSA al 0,5%. Se añaden los reactivos de detección a la mezcla reactiva, con las siguientes diluciones: 1:500 para Eu-W1024-PY100 y 1:250 para SA-APC. Se termina la reacción de la quinasa mediante la adición de 50 μ L de tampón de parada que contiene los reactivos de detección. Se permite que la detección continúe durante 1 hora a temperatura ambiente. La detección del sustrato fosforilado en la ausencia y presencia de inhibidores se mide mediante el instrumento TR-FRET, Analyst HT (Molecular Probes, Sunnyvale, CA) y se establece la condición para las mediciones mediante la utilización de CriterionHost Release 2.0 (Molecular Probes, Sunnyvale, CA). Los ajustes utilizados son como sigue: excitación 360 nm, emisión 665 - 7.5 nm, divisor de haz 350 nm 50/50, flash 100 pulsos, retardo 60 us, integración 400 us, altura z 2 mm. La inhibición de la actividad tirosina quinasa de SYK se calcula como la máxima respuesta observada en la presencia de inhibidor, en comparación con aquella en ausencia de inhibidor. Las CI_{50} se obtuvieron mediante análisis de regresión no lineal.

Se utilizó la citometría de flujo fosfo intracelular para ensayar la inhibición del compuesto de ensayo en cuanto a la actividad de Syk en líneas de células de linfoma no Hodgkin intactas Ramos y SUDHL-6. Se hicieron alícuotas de 10×10^6 células en fase logarítmica de crecimiento; se activa la Syk quinasa mediante la incubación de células durante 10 minutos con 3 μ g/ml de anticuerpo específico del receptor de las células B. Inmediatamente después, las células se fijan en paraformaldehído al 1% durante 5 minutos a la temperatura ambiente, se lavan en solución salina tamponada con fosfato, y seguidamente se impermeabilizan mediante incubación durante 2 horas en metanol enfriado en hielo. Se lavan las células nuevamente en solución salina tamponada con fosfato, y seguidamente se incuban durante 30 minutos con anticuerpo específico para Erk (Y204) y BLNK (Y84) fosforilados, que son indicadores de la actividad de la Syk quinasa, y el Syk fosforilado (Y352), que es una medida de la actividad de la quinasa de la familia de las Src. Todos los anticuerpos se adquirieron en BD Pharmingen (San Jose, CA). Después de la incubación con anticuerpos, se lavan las células nuevamente y se someten a citometría de flujo. En la Tabla 1 se muestran datos representativos que detallan la inhibición de la señalización del receptor de las células B por los compuestos, en forma de intervalos de CI_{50} .

También se evaluaron los efectos anti-proliferativos de los compuestos sobre las líneas de células de linfoma no Hodgkin SUDHL-4, SUDHL-6, y Toledo. SUDHL-4 y SUDHL-6 PRI requieren la señalización del receptor de las células B para su crecimiento y supervivencia, mientras que la línea de células Toledo (que en este caso sirve como control negativo) no la requiere. Se hicieron alícuotas de células en cada pocillo de una placa de 96 pocillos, y se incubó con concentraciones crecientes de compuesto durante 72 horas, después de lo cual se determinó la supervivencia y la proliferación de las células mediante la utilización del ensayo de MTT (Chemicon International, Inc., Temecula, CA), para lo cual se siguieron los protocolos indicados por el fabricante. Los datos se detallan en las Tablas y en las figuras de la presente en forma de valores de CI_{50} más o menos las desviaciones estándar de 5 ó 6 experimentos independientes.

Se evaluó la inducción de la apoptosis en las líneas de células B de linfoma no Hodgkin, SUDHL-4, SUDHL-6, y Toledo, midiendo el marcador de apoptosis Caspasa 3. Se incubaron las células con compuesto 1, 3 ó 10 μ M durante 24, 48, y 72 horas. A la conclusión de cada punto de tiempo, se procesaron las células para el análisis de citometría de flujo, para lo cual se utilizó el kit Monoclonal Rabbit Anti-Active Caspase-3 Antibody y protocolos relacionados (BD Pharmingen). Los datos tomados de dos experimentos independientes se presentan en las Tablas 7A y 7B, que representan el porcentaje de células totales que experimentan apoptosis después de incubación con los compuestos en las condiciones indicadas.

La actividad de Syk no se requiere solamente para la señalización, proliferación y supervivencia de las células B, como se muestra, sino que también es crítica para la activación celular después del entrecruzamiento del receptor de las células B. La activación de las células B conduce a una expresión incrementada de la superficie de las células de varias proteínas que intervienen en la señalización de las células, en la presentación del antígeno, y en la adhesión. Entre éstas, CD80, CD86, y CD69 se miden comúnmente para determinar el estado de la activación de las células B. Por lo tanto, se hicieron alícuotas de células B primarias de ratón aisladas del bazo, y se incubaron con concentraciones crecientes del compuesto (de 0,05 a 2 μ M) en la presencia de IgD anti-ratón de cabra (eBiosciences, Inc., San Diego,

ES 2 546 502 T3

5 CA) durante 20 horas para entrecruzar el receptor de las células B. A continuación, se lavaron las células y se incubaron durante 30 minutos sobre hielo con anticuerpos específicos para los marcadores de activación de las células B, CD80, CD86, y CD69. Las células B fueron identificadas entre la población combinada mediante tinción con el marcador de las células B, CD45RO. Todos los anticuerpos fueron adquiridos en BD Pharmingen. En la Tabla 8 se ilustra el intervalo de CI_{50} en el que estos compuestos inhibieron la activación inducida por receptor de las células B de las células B primarias de ratón.

En la siguiente tabla, la actividad en los ensayos del Syk y/o Jak se provee como sigue: +++++ = $CI_{50} < 0,0010 \mu M$; ++++ = $0,0010 \mu M < CI_{50} < 0,010 \mu M$, +++ = $0,010 \mu M < CI_{50} < 0,10 \mu M$, ++ = $0,10 \mu M < CI_{50} < 1 \mu M$, + = $CI_{50} > 1 \mu M$.

Tabla 6a: (el asterisco indica un Ejemplo de Referencia)

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI_{50}
1*	240, 297	452,6	453,2	++
2*	236, 312	459,6	460,1	++
3	239, 304	392,5	393,2	++
4	231, 311	410,5	411,2	+++
5	238, 337	403,5	404,2	+++
6	239, 311	403,5	404,2	+++
7	241, 330	403,5	404,2	+++
8	243, 308	404,5	405,2	+++
9	239, 313	409,5	410,2 410,4	+++
10	233, 308	410,5	411,2	+++
11	240, 311	403,5	404,2	+++
12	245	404,5	405,2 405,3	+++
13	240, 312	403,5	404,2	+++
14	240, 318	409,5	410,2	+++
15	243, 332	409,5	410,2	+++
16	240, 302	392,5	393,2 393,3 393,4	+++
17	248	403,5	404,2	++++
18*	243, 294	411,5	412,2 412,3	+++
19	242, 307	404,5	405,3	+++
20*	244, 293	425,5	426,3	++
21	239, 327	404,5	405,4	+++
22	235, 319	404,5	405,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
23	239, 334	403,5	404,4	+++
24	242, 300	393,5	394,4	+++
25	241, 300	406,5	407,4	+++
26	241, 296	397,4	398,4	++
27	246, 292	392,5	393,2 393,5	+++
28*	246, 287	409,5	410,5	++
29*	239, 309	429,5	430,4	+++
30	241, 236	460,5	461,4	++
31	247	392,5	393,4	++++
32		410,5	411,3 411,5	++
33		427,5	428,4	+++
34		410,5	411,3	+++
35		424,5	425,3	++
36	201,6, 240,4, 289,0	410,5	411,09	++
37	202,8, 245,2	409,5	410,2, 411,2	++++
38	240,4, 312,8	427,5	428,5, 429,4	+++
39	206,3, 242,8, 291,4	409,5	410,2, 411,4	++++
40	201,6, 244,0, 277,1	409,5	410,5, 411,6	++++
41	242,8, 292,6	403,5	404,2, 405,3	+++
42	244,0, 289,0	404,5	405,3, 406,5	+++
43	246,3	404,5	405,2, 406,2	+++
44	242,8	406,5	407,2, 408,2	+++
45	247,5	433,5	434,3, 435,3	+++
46	240,4, 306,8	433,5	434,3, 435,3	+++
47*	240,4, 296,1	425,5	426,3, 427,3	+++
48		418,5	419,5 (M+1)	+++
49*		438,6	439,6 (M+1)	++
50		393,5	MS: 394,2 (M + H)	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
51		393,5	MS: 394,3 (M + H)	+++
52		394,4	MS: 395,28 (M + H)	++
53		393,5	MS: 394,28 (M + H)	+++
56		408,5	MS: 409,28 (M + H)	+++
57		423,5	MS: 424,37 (M + H)	+++
58		408,5	MS: 409,32 (M + H)	+++
59		392,5	MS: 393,0 (M+H)	++++
60		408,5	MS: 410 (M + H)	+++
61		423,5	MS: 424,5 (M + H)	+++
62		406,5	MS: 407,5 (M + H)	+++
63*		409,5	MS: 410,5 (M + H)	+++
64		420,5	MS: 421,5 (M + H)	++
65		424,5	MS: 425,4 (M + H)	++++
66		394,4	MS: 395,5 (M + H)	++++
67		408,5	MS: 409,5 (M + H)	+++
68		408,5	MS: 409,5 (M+H)	+++
69		408,5	MS: 409,5 (M+H)	+++
70		391,5	MS: 392,5 (M + H)	++++
71		391,5	MS: 392,4 (M + H)	+++
72		406,5	MS: 407,5 (M + H)	+++
73*		395,5	MS: 396,6 (M + H)	+++
74*		411,5	MS: 412,5 (M+H)	+++
75		394,4	MS: 395,3 (M + H)	+++
76		394,4	MS: 395,2 (M + H)	++++
78		394,4	MS: 395,2 (M + H)	+++
79	243, 302	478,5	479,4	++
80	246, 301	594,5	595,4	+
81	247	477.6	478,4	+
82	241	392,5	393,4	++++
83	241, 319	424,5	425,3	+++
84	246, 293	406,5	407,3	++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
85	243, 285	406,5	407,3	++
86	244	393,5	394,3	++++
87	250	393,5	394 394 (M+H) 394,3 394,8 (M +H) ES(+) ES(+) MS [M+1]=394	++++
88	242, 300	423,5	424,3	+++
89	242, 301	422,5	423,3	+++
90	242, 300	436,5	437,3	+++
91*	249, 301	489,6	490,3	+
92	247	411,4	412,3	+++
93	259	418,5	419,4	+
94	252	418,5	419,4	++
95	244, 288	418,5	419,4	++
96	245, 296	433,5	434,4	+++
98	249	422,5	423,4	+++
101a	250	394,4	395,3	+++
101b	250	408,5	409,3	++++
102	246, 304	407,5	408,3	+++
103	249	442,5	443,3	+++
104a	240, 295	442,5	443,4	+++
104b	240, 295	442,5	443,4	+++
105a	234, 303	443,5	444,4	+++
105b	234, 303	443,5	444,4	+++
106	240, 292	442,5	443,3	+++
107*	243. 290	459,6	460,3	++
108*	245	486,6	487,5	++
109	263	453,6	454,3	+++
110	249	453,6	454,3	+++
111	240, 311	406,5	407,3	+++
113	239, 314	406,5	407,3	++++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
114	239, 310	393,5	394,3	+++
115	250	411,4	412,3	+++
116	244, 295	423,5	424,3	++++
117	249	423,5	424,3	++++
118	243, 281	407,5	408,3	++++
119	248	407,5	PM = 407,47, M+H=408,8	++++
120	249	404,5	405,3 405,4	+++
121	231, 314	404,5	405,3	+++
122	249	406,5	407,3	++++
123	247	406,5	407,3	+++
124	247	442,5	443,3	+++
125	245, 303	442,5	443,3	+++
127*	241, 298	383,5	384,1 384,2	+++
128*	246, 295	367,4	368,1	+++
129*	246, 295	397,5	398,1	+++
130*	239, 309	365,4	366,2	++++
132*	241, 283	377,5	378,1 378,2 (M+1)	++++
133*	243, 294	366,4	367,2	+++
134*	246, 292	383,5	384,2	+++
135*	250	366,4	367,1	+++
136*	240, 294	384,4	385,1	+++
137*	242	378,4	379,2	+++
138*	243	384,5	385,1	++
139*		391,5	392,2 (M+1)	+++
140*		377,5	378,34	+++
142*		377,5	378,34 (M+1)	++
143*		476,6	477,40 (M+1)	+++
144*		406,4	407,28 (M+1)	++
146*		381,4	382,35 (M+1)	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
147*		439,5	440,38 (M+1)	++
148*		397,4	398,31 (M+1)	+++
149*		409,5	410,36 (M+1)	+++
150*		402,5	403,32 (M+1)	+++
151*		395,5	396,35 (M+1)	++++
152*		393,5	394,14 (M+1)	++++
153*		411,5	412,5 (M+1)	+++
154*		397,4	398,5 (M+1)	++
155*		407,5	408,6 (M+1)	+++
156*		468,6	469,4	+
157*		377,5	378,2 (M+1) 378,5 (M+1) 378,6 (M+1)	++++
158*		380,5	381,17 (M+1)	++++
159*		380,5	381,17 (M+1)	++++
160*		380,5	381,17 (M+1)	+++
161*		462,6	463,32 (M+1)	+++
162*		397,5	398,2 (M+1)	+++
163*		379,5	380,4 (M+1)	+++
165*		432,5	433,2 (M+1)	++++
166*		411,5	412,2 (M+1)	++
167*	245	495,6	496,3	+++
168*	249	499,6	500,3	+++
169*	244	495,6	496 496,3	+++
170*	246	499,6	500,3	+++
171*	247	487,6	488 488,3	+++
172*	246	487,6	488,3	+++
173*	238, 309	487,6	488,3	+++
174*	241, 314	487,6	488,3	+++
175*	246	408,5	409 409,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
176*	241, 290	410,5	411,4	++
177*	239, 309	408,5	409,3 409,4	+++
178*	243, 296	410,5	411,3	++
179*	232, 306	466,6	467,3	++
180*	238, 290	418,5	419,3	++
181*	241, 291	426,5	427,3	+++
183*	244, 297	439,5	440,3	++
185*	243,8, 290,0	456,5	457,2	++
186*		400,4	401,2, racemato	++
187*	242,6, 290,0	456,5	457,2, racemato	++
188*	242,6, 290,0	400,4	401,2, racemato	+++
189*	241,2, 292,1	330,4	331,4	++
190*	237,6, 313,1	329,4	330,3	++
191*	240,0, 303,2	392,5	393,4	+++
192*	244,9, 326,1	346,5	347,3	++++
193*	247,3, 325,6	346,5	347,3	+++
194*	240,0, 314,3	391,5	392,4	+++
195*	244,0, 316,4	446,6	447,3, 448,4	+++
196*	240,4, 304,5	447,5	448,1, 449,2	++
197*	239,3, 308,7	402,5	403,4	+++
198	243,6, 286,5	393,5	394,4, 395,5	++++
199	245,2, 293,8	393,5	394,4, 395,4	++
200	239,9	393,5	394,5	++
202	243,6, 287,1	407,5	408,4	+++
203*	241,4, 288,8	412,5	413,1, 414,2	++
204*	240,5, 287,8	398,5	399,2, 400,2	+++
205*	238,1, 292,6	370,5	371,2, 372,3	+++
206*	236,9, 286,6	386,5	387,1, 388,2	+++
207*	240,4, 292,6	418,5	419,3, 420,3	++
209*		376,5	377,1, 378,5	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
210*	227,5, 319,9	406,5	407,2, 408,5	++++
211a*	212,2, 244,0, 306,8	394,5	395,1, 396,3	++++
211b*	223,9, 318,8	419,5	420,2, 421,4	++++
212*	219,2, 235,7, 318,8	433,5	434,3, 435,3	+++
213*	218,0, 314,0	447,5	448,2, 449,4	++++
214*	223,9, 293,8	410,9	411,2, 413,1	++
215*		455,4	455,1, 457,1	++++
216*		381,4	382,3	+++
217*	220,4, 315,2	489,6	490,4, 491,4	++++
218*	219,2, 241,6, 336,7	379,5	380,4	++++
219*		395,5	396,3	++++
219*	216,7, 239,9, 330,3	365,4	366,3, 367,4	+++++
220*	210,6, 243,0, 329,1	380,5	381,5	++++
221*	238,1	381,4	382,4	++
222*	234,5, 298,5, 315,2	384,5	385,3	+++
223*	203,4, 245,4	378,4	379,3	+++
224*	205,1, 242,8, 290,2	383,5	384,3	+++
225*	202,8, 239,3	380,5	381,4	++
226*	220,4, 239,3, 336,7	379,5	380,4	++++
227*	241,6, 293,8	441,5	442,5	++
228*	222,8, 242,8	393,5	394,4	+++
229*	222,8, 241,6	405,5	406,5	++++
230*	203,9, 236,9, 294,9	367,4	368,4	+++
231*	220,2, 242,6	393,5	394,4	++++
232*	210, 243	462,6	PM = 462,5; M+1 = 463,3	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
233*	248	432,5	PM = 432,5, M+1 = 433,4	+++
234*	245	492,6	PM = 492,6, M+1 = 493,4	++
235*	241	432,5	PM = 432,5, M+1 = 433,3	+++
236*	245, 276	444,5	445 PM = 444,5, M+1 = 445,3	++++
237*	244, 288	432,5	PM = 432,5, M+1 = 433,3	+++
238*	245	420,5	PM = 420,5; M+1 = 421,3	++++
239*	242	420,5	PM = 420,5; M+1 = 421,3	+++
240*	246	462,6	PM = 462,5; M+1 = 463,3	+++
242*	245	438,5	PM = 438,5; M+1 = 439,3	+++
243*	244, 288	462,6	463,3	+++
245*	211, 243	460,5	PM = 460,5; M+1 = 461,2	++++
246*	242, 316	460,5	PM = 460,5; M+1 = 461,2	+++
247*	216, 238, 303	473,6	PM = 473,6, M+1 = 474,4	+++
248*	252	485,6	PM = 485,6; M+1 = 486,4	+++
249*	247	485,6	PM = 485,6; M+1 = 486,4	+++
250*	246	471,6	PM = 471,6; M+1 = 472,4	+++
251*	248, 282	485,6	PM = 485,6; M+1 = 486,4	+++
252*	245	485,6	PM = 485,6; M+1 = 486,4	+++
253*	239, 274, 296	446,5	PM = 446,5; M+1 = 447,3	++++
254*	240, 285	480,6	PM = 480,6; M+1 = 481,4	+

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
255*	246	480,6	PM = 480,6; M+1 = 481,4	++++
256*	250	480,6	PM = 480,6; M+1 = 481,4	+++
257*	235, 308	480,6	481,4	+++
259*	239, 313	480,6	481,4	+++
260	239, 302	453,6	454,4	++
261	240, 301	453,6	454,4	++
262	241, 302	453,6	454,4	++
264*	212, 236, 322	416,5	417,4	+++
265*	210, 244, 289	416,5	417,3	+++
266*	238, 296	429,5	430,3	+++
267	250	393,5	394,3	++
268	250	393,5	394,3	+++
269	252	393,5	394,3	++
270	252	393,5	394,3	+
272	252	393,5	394,3	+
273	251	379,4	380,3	+
274	259	461,5	PM = 461,4, M+1 = 462,2	+++
275	239, 296	407,5	PM = 407,47, M+1 = 408,4	+++
276	238, 296	406,5	PM = 406,48, M+1 = 407,5	++
277	245, 295	461,5	PM = 461,4, M+1 = 462,4	+++
278	245, 295	461,5	PM = 461,4, M+1 = 462,4	++
279*	244	352,4	353,2	++++
280*	236, 310	352,4	353,2	+++
281*	242, 289	354,5	355,3	+++
282*	240, 290	368,5	369,3	+++
283*	250	407,5	408,4	+++
284*		391,4	392,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
285	242, 305	411,4	PM = 411,44, M+1 = 412,2	+++
292		376,5	377,1 377,1 (M+1) 377,3 (M+1) 377,1, 378,2	++++
294*	245,4	379,5	380,4	++
295	249	379,4	380,4	++
296*	240, 287	326,4	327,4	++
297*	217, 239, 290	340,4	341,4	+++
298	249	395,4	396,3	+++
299	250	395,4	396,3	++
300	246	394,4	395,3	+++
301	249	406,5	407,3	++
302*	240, 288	342,4	343,3	+++
303*	240, 290	356,4	357,3	++++
304*	240, 283	358,4	359,3	+++
305*	241, 287	342,4	343,3	++
306*	239, 292	376,4	377,3	++
308*	240, 292	358,4	359,2	+++
310a*	243, 294	356,4	357,3	++
310b*	243, 290	356,4	357,3	+++
311	249	409,5	410,3	+++
312a*	247, 295	370,5	371,3	++
312b*	242, 289	370,5	371,3	++
314*	240	356,4	357,3	++
315*	246, 303	382,4	383,1	+++
316*	245, 302	340,3	341,1	++
317*	249, 298	402,4	403,1	++
318*	241, 283	393,5	394,1 394,2 (M+1)	+++
319*	243, 303	399,5	399,1	+++
320*	245	381,4	382,1	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
321*	247, 301	382,4	383,2	+++
322*	249, 285	420,5	421,1	+
323*	250, 300	420,5	421,1	++
324*	243, 296	468,6	469,2	++
325*	244, 297	382,4	383,2	+++
327*	245, 299	340,3	341,2	++
328*	245, 296	413,5	414,2	++
330*	244, 303	357,4	358,2	++
331*	249, 292	357,4	358,2	++
332*	247, 295	399,5	400,2	+++
333*	250	340,3	341,1	++
334*	252	382,4	383,1	+++
335*	224	339,4	340,1	++
336*	243, 310	400,4	401,1	++
337*	243, 312	358,4	359,1	++
338*	243	394,4	395,2	+++
339*	242	352,4	353,2	++
340*	241, 308	408,5	409,2	++
341*	240, 314	425,5	426,2	+++
342*	233, 311	426,5	427,2	+++
343*	240	400,5	406,1	++
344*	244, 314	419,5	420,2	++
345*	244, 294	427,5	428,3	+++
346*	240, 310	445,5	446,3	++
347*	246	427,5	428,3	++
349*	247, 292	411,5	412,3	++
350*	241, 314	419,5	420,3	++
351*	250	419,5	420,3	++
352*	243, 284	395,5	MS: 396,4 (M + H)	+++
353*	250	408,5	409,3	++
354*		367,4	MS: 368,17 (M + H)	++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
355*		367,4	MS: 368,29 (M + H)	++
356*		450,5	451,35 (M+1)	+++
357*	251	409,5	410,3	++
358*	250	381,4	382,3	++
359*	251	367,4	368,3	++
360*	247	353,3	354,3	+
361*	240, 313	424,5	425,3	+++
362*	244, 298	426,5	427,3	++
364*	251, 302	490,6	491,3	++
372*	207,5, 244,0, 325,9	396,5	397,4	++
374*		388,4	Turbopul-verización espec. de masa [M+1]=388	++
375*		407,3	Turbopulverización MS [M+1]=407	++
376*		372,4	Turbopulverización MS [M+1]=373	++
378*		396,4	Turbopulverización MS [M+1]=397	++
379*		353,4	Turbopulverización MS [M+1]=354	++
380*		358,4	Turbopulverización MS [M+1]=359	++
381*		342,4	Turbopulverización MS [M+1]=343	++
383*		360,4	Turbopulverización [M+1]=361	++
385*		328,4	Turbopulverización MS [M+1]=329	++
386*		314,3	ES (+) MS [M+H]=315 Turbopulverización MS [M+1]=315	++
387*		330,3	Turbopulverización MS [M+1]=331	++
389*		422,4	Turbopulverización espec. de masa [M+1]=423	++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
390*		392,4	Turbopulverización MS [M+1]=393	++
391*		430,4	Turbopulverización [M+1]=431	++
392*		441,3	Turbopulverización=442	++
393*		344,4	Turbopulverización MS [M+1]=345	++
394*		344,4	Turbopulverización MS [M+1]=345	++
396*		330,3	Turbopulverización MS [M+1]=331	++
397*		395,2	Turbopulverización MS [M]=395	++
398*		346,3	Turbopulverización MS [M+1]=347	++
399*		404,5	Turbopulverización MS [M+1]=405	++
400*		424,9	Turbopulverización MS [M+1]=425	++
401*		408,4	Turbopulverización MS [M+1]=409	++
402*		404,5	Turbopulverización MS [M+1]=405	++
404*		391,4	Turbopulverización MS [M+1]=392	++
405*		420,5	Turbopulverización MS [M+1]=421	++
406		406,4	Turbopulverización MS [M+1]=407	+++
407*		406,4	Turbopulverización MS [M+1]=407	++
408*	248, 294	385,5	386,4	+
409*	240, 283	365,4	366,2	+++
410*	243, 302	385,5	386,4	++
411*	246, 293	371,4	372,4	++
412*	216,9, 244,0	395,5	396,3	+++
413*	213,3, 244,0, 333,1	396,5	397,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
414*	241,6, 318,8	382,4	383,4, 384,3	++
416*	240, 292	300,4	301,3	+++
417*	249	339,4	340,3	+++
418*	251	353,4	354,3	++
419*	252	367,4	368,3	++
420*	249	367,4	368,3	++
422*	250	353,4	354,3	++
423*	254	394,4	395,3	+
424*	250	353,4	354,3	+++
425*	247	364,4	365,4	+++
426*	243, 289	300,4	301,4	+++
427*	243, 289	314,4	315,4	+++
428*	250	353,4	354,3	+++
440*	219,2, 239,3, 331,9	369,4	370,4	++++
441*	220,4, 325,9	367,5	368,4	++++
442*	220,4, 239,9, 331,6	397,5	398,4	++++
443*	219,2, 239,3, 331,9	383,5	384,3	++++
444*	215,7, 238,1, 327,1	369,4	370,3	++++
445*	214,9, 241,7, 324,1	370,4	371,3	++++
447*	203,9, 244,0, 303,3	395,5	396,4	++++
448*	208,6, 240,4, 283,1, 324,7	384,4	385,4	+++
449*	221,6, 336,7	409,5	410,4	+++
450*	222,8, 336,7	409,5	410,4	+++
451*	221,6, 335,5	409,5	410,4	+++
452*	219,2, 239,3, 327,1	381,5	382,4, 383,5	+++
454*		439,9	Turbopul-verización MS [M+1]=440	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
455*		396,4	Turbopul-verización MS [M+1]=396	+++
456*		405,5	Turbopul-verización MS [M+1]=406	+++
457*		359,4	ES (+) MS [M+1]=360	+++
458*		426,5	Turbopul-verización MS [M+1]=427	+++
459*		460,9	Turbopul-verización MS [M+1]=447	+++
460*		435,5	Turbopul-verización MS [M+1]=436	++
462*		423,5	Turbopul-verización MS [M+1]=424	++
463*		462,5	Turbopul-verización MS [M+1]=463	++
465*	246	367,4	PM = 367,4, M+1 = 368,3	+++
467*	238, 284	314,4	415,4	+++
468*	240, 290	328,4	329,4	+++
469*	248	367,4	368,4	++++
470*	248	378,4	379,4	+++
471*	246	366,4	367,4	+++
473*	250	379,4	380,4	+++
478*	245	421,4	422,3	+++
479*	240	340,4	341,5	+++
481*	219,2, 240,4, 331,9	367,5	368,4	++++
482*	220,2, 241,4, 330,6	365,4	366,4	++++
483*	219,2, 240,4, 333,1	353,4	354,4	++++
484*	219,3, 239,4, 326,7	397,5	398,4	++++
485*	216,7, 238,7, 327,2	355,4	356,4	++++
499*	224,9, 316,2	409,5	410,2, 411,3	+++
500*	223,9	383,5	384,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
501*	203,9, 241,6	384,4	385,3, 386,4	+++
502*	220,4, 333,1	369,4	370,4	+++
503*	209,8, 240,4, 283,1, 325,9	384,4	385,4	+++
507*	220,4, 240,4	383,5	384,4	+++
508*	218,6, 242,3	431,5	432,4	+++
509*	219,8, 241,7	381,5	382,4	+++
510*	240,3, 290,0	344,4	345,4, 346,5	+++
511*	218	383,5	384,4	+++
512*	211,3, 242,3, 330,9	432,5	433,4	+++
513*	202,8, 246,3	392,5	393,4	+++
514*	221,6, 315,2	396,5	397,0, 398,4	+++
515*	203,4, 246,6	454,5	455,4	+++
516*	222,8, 316,4	423,5	424,4, 425,1	+++
517*	208,8, 241,7, 316,7	370,4	371,5	+++
518*	240,5, 288,4	328,4	329,5	+++
519*	241,1, 286,5	314,4	315,4	+++
520*	206,3, 240,4, 311,6	356,4	357,3	+++
521*	203,8, 235,5, 290,0	376,4	377,30, 378,42	+++
522*	218,0, 311,6	479,5	480,4	+++
523*	239,3, 289,0	330,3	331,1, 332,1	+++
524*	241,1, 287,7	354,5	355,5	+++
525*	241,7, 285,9	328,4	329,4	+++
526*	219,2, 282,8	366,4	367,1, 368,2, 367,4	+++
527*	241,7, 286,5	326,4	327,4	+++
530*	241,4, 287,7	340,4	341,4	+++
531*	242,8	393,5	394,4	+++
532*	240,4, 290,2	399,5	400,2, 401,5	+++
533*	204,6, 251,5	393,5	394,4	+++

ES 2 546 502 T3

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
535*	242,3, 285,4	383,4	384,3	+++
536*	239,3, 285,4	344,4	345,1, 356,1	+++
537*	202,8, 308,0 238,1,	370,4	371,3	+++
538*	208,6, 319,9 240,4,	384,4	385,3	+++
539*	203,9, 249,9	367,4	368,4	+++
540*	202,1, 246,0	406,5	407,4	+++
543*	215,7, 289,0 240,4,	364,8	365,2, 367,1	+++
546*	239,9, 284,7	342,4	343,5	+++
547*	238,1, 299,7	370,4	371,4	+++
548*	239,7	346,4	347,23, 348,32	+++
549*	239,3, 286,6	344,4	345,2, 346,3	++
550*	215,5, 330,9 241,7,	433,5	434,5	++
551*	249,9	383,4	384,3, 385,3	++
552*	247,2	382,4	383,3	++
553*	243,6	394,4	395,3, 396,4	++
554*	238,1, 286,6	316,4	317,25, 318,83	++
556*	239,3	344,4	345,2, 346,3	++
557*	240,5, 286,5	344,4	345,4	++
558*	220,4, 239,3	339,4	340,4	++
560*	239,3	360,4	361,2, 362,2	++
561*	238,1, 281,9	382,4	383,5, 384,5	++
562*	250,3	411,5	412,4	++
563*	208,6, 311,6 240,4,	384,4	385,3	++
564*	238,1, 292,6	360,4	361,2, 362,3	++
565*	232,6, 287,8	373,4	374,3	+++
566*	239,3, 287,8	356,5	357,4	++
567*	204,6, 250,9	379,4	380,4	++
569*	242,8	384,4	385,2, 386,4	++

Ejemplo	UV	PM	MH+	Syk CI50
570*	238,1, 290,2	344,4	345,1, 346,2	++
581*	243.6, 292,1	373,4	374,3	++
582*	239,3, 285,4	342,4	343,4	++
583*	235,7, 285,4	376,4	377,1, 378,2	++
584*	240,4, 287,8	383,5	384,14, 385,06	++
585*	235,7, 315,2	374,4	375,2	++
586*	230,1, 311,2	394,4	395,4, 396,3	++
587*	245,4	368,4	369,2, 370,1	++
588*		373,5	374,3, 375,3	++
589*	202,8, 282,2 239,9,	390,4	391,4	++
590*	238,1, 293,8	415,5	416,2, 417,4	++
591*	239,3, 292,7	374,4	375,3	++
592*	240,4	356,5	357,4	++
593*	241,7, 288,4	408,5	409,4	++
594*	203,9, 292,6 235,7,	357,4	358,3	++
595*	239,3	358,4	359,2, 360,4	++
598*	248,7	395,5	396,4	++

Inhibición de la función de plaquetas, mediada por GPVI, in vitro

5 La capacidad de las moléculas candidato de inhibir las funciones, mediadas por syk, de las plaquetas, se ensaya midiendo la inhibición de la movilización o agregación de calcio de las plaquetas humanas inducidas por convulxina del agonista GPVI específico. La movilización del calcio se evalúa en plaquetas humanas lavadas en un formato de microtitulación de 96 pocillos. Se evalúa la agregación en un ensayo de microtitulación de 96 pocillos (Para una idea general de los procedimientos, Véase Jantzen, H. M. *et al.* (1999) *Thromb. Hemost. 81*:111-117) o mediante agregometría de transmitancia de luz en cubeta estándar, utilizándose plasma rico en plaquetas humanas (PRP, platelet-rich plasma).

10 Inhibición de la movilización de calcio in vitro, mediada por convulxina

15 La inhibición de la movilización de calcio inducida por convulxina fue determinada en plaquetas humanas lavadas mediante el uso del kit FLIRP Calcium 3 Assay Kit (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Para la preparación de las plaquetas lavadas, se reúne sangre venosa humana de voluntarios sanos, libres de droga, en ACD (citrato de sodio 85 mM, glucosa 111 mM, ácido cítrico 71,4 mM) que contiene PGI₂ (1,25 ml de ACD que contiene PGI₂ 0,2 µM final; el PGI₂ era de Sigma, St. Louis, MO). El plasma rico en plaquetas (PRP, platelet-rich plasma) se prepara mediante centrifugación a 160 X g durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se preparan plaquetas lavadas mediante centrifugación de PRP durante diez minutos a 730 g y se resuspende el sedimento de plaquetas en CGS (citrate de sodio 13 mM, glucosa 30 mM, NaCl 120 mM, 2 ml de CGS/10 ml de volumen de sangre original). Después de incubación a 37°C durante 15 minutos, se reúnen las plaquetas por centrifugación a 730 g durante 10 minutos y se resuspende con una concentración de 3 X 10⁸ plaquetas/ml en tampón Hepes-Tyrode (Hepes 10 mM, NaCl 138 mM, glucosa 5,5 mM,

KCl 2,9 mM, NaHCO₃, 12 mM, pH 7,4). Esta suspensión de plaquetas se mantiene durante >45 minutos a la temperatura ambiente antes de su uso en ensayos de movilización del calcio.

5 Para los ensayos de movilización del calcio en placas de 96 pocillos, se incubaron volúmenes iguales de 3×10^8 plaquetas lavadas/ml con volúmenes iguales de reactivo de ensayo A de calcio 3 suspendido en solución de sal equilibrada de Hank 1 X, pH 7,4, tampón Hepes 20 mM. El volumen total de reacción de 0,2 ml/pocillo incluye una
 10 mezcla de $1,5 \times 10^9$ /ml plaquetas lavadas/reactivo de ensayo A calcio 3, Eptifibatide 10 μ M (Millennium Pharmaceuticals Inc, Cambridge, MA), diluciones seriadas (1:3) de los compuestos de ensayo en DMSO al 0,75%. Se añade DMSO solo a 1 pocillo de cada 8 conjuntos de manera que se permite una lectura máxima de la movilización del calcio. Después de
 15 veinte minutos de preincubación a la temperatura ambiente, se carga la lectora de microplaca de 96 pocillos en el FlexStation (Molecular Devices, Sunnyvale, Calif). Mediante SOFTMax Pro se establecen las condiciones experimentales del FlexStation para medir la movilización del calcio. Los ajustes utilizados se detallan en lo que sigue. Modo de ensayo de los parámetros de fluorescencia: flex, excitación 485 nM, 525 nM con un corte de 515 nM; sensibilidad PMT de los parámetros-6, altura de la pipeta 230 μ l, tiempo de lectura 2 minutos y 40 segundos, intervalos de lectura 2 segundos, temperatura -23-25^o. Después de 18 segundos de lectura de línea de base, se inicia la
 20 movilización del calcio mediante la adición de convulxina hasta una concentración final de 125 ng/ml. Se calculó la inhibición de la movilización del calcio como la máxima respuesta observada en la presencia del inhibidor, comparado con la respuesta en ausencia del inhibidor. Las CI₅₀ se derivaron mediante análisis de regresión no lineal.

Inhibición de la agregación de plaquetas in vitro, mediada por convulxina

20 Para la preparación de plasma rico en plaquetas humanas para ensayos de agregación se reunió sangre venosa humana de voluntarios sanos libres de drogas, en citrato de sodio al 0,38 % (0,013 M, pH 7,0 final). Se preparó plasma rico en plaquetas (PRP, platelet-rich plasma) mediante centrifugación de sangre completa 160 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se retiró la capa de PRP, se transfirió a un tubo nuevo, y se ajustó el recuento de las plaquetas, de manera que se logra una concentración de las plaquetas de $\sim 3 \times 10^8$ plaquetas/ml mediante el uso del plasma pobre
 25 en plaquetas (PPP, platelet-poor plasma). El PPP se prepara por centrifugación de la muestra restante de sangre (después de la retirada del PRP) durante 20 minutos a 800 x g. Esta preparación de PRP puede utilizarse seguidamente para ensayos de agregación sea en una placa de 96 pocillos sea en agregometría de cubetas estándar.

30 La inhibición de la agregación inducida por convulxina se determina en placas de microtitulación de 96 pocillos de fondo plano, para lo cual se utiliza un dispositivo de sacudidas de placa microtitulación y un lector de placas, de manera similar al procedimiento descrito por Frantantoni et al., Am. J. Clin. Pathol. 94, 613 (1990). Todos los pasos se llevan a cabo a temperatura ambiente. Para la agregación en placas de 96 pocillos se utiliza plasma rico en plaquetas (PRP); el volumen total de la reacción de 0,2 ml/pocillo incluye 190 μ l de PRP ($\sim 3 \times 10^8$ plaquetas/ml, véase en lo que precede), y 5 μ l bien de dilución seriada de compuestos de ensayo en DMSO al 30% o tampón (para las pocillos de control). Después de
 35 veinte minutos de preincubación a la temperatura ambiente se añaden 5 μ l de 320 ng/ml de solución de agonista convulxina a cada pocillo de manera que se obtiene una concentración final de 8 ng/ml de convulxina. Seguidamente se someten las placas a agitación durante 5 minutos sobre un dispositivo para sacudir placas de microtitulación, y se obtiene una lectura de 5 minutos en el lector de placas de microtitulación (Softmax, Molecular Devices, Menlo Park, Calif.). Se calcula la agregación a partir de la disminución de DO a 650 nm a t=5 minutos. Las CI₅₀ se derivaron mediante análisis de regresión no lineal.

40 También se determinó la agregación inducida por convulxina para los ensayos de agregación de transmitancia de luz en las cubetas; se prepararon diluciones seriadas (1:2) de compuesto de ensayo en DMSO al 30% en una placa de 96 pocillos y fondo en "V" (la concentración final del DMSO en la cubeta era del 0,3%). El compuesto de ensayo (5 μ l de diluciones seriadas en DMSO) fue preincubado con PRP durante 20 minutos antes de la iniciación de las reacciones de agregación, que se llevaron a cabo en un agregómetro ChronoLog mediante la adición de agonista (125-250 ng/ml de convulxina) a 495 μ l de PRP a 37^oC. Se registró la reacción de agregación durante 4 minutos, y se determinó el grado
 45 máximo de la agregación mediante la diferencia de la amplitud de la agregación en la línea de base, comparado con la agregación máxima que tiene lugar durante el período de 4 minutos del ensayo. Se calculó la inhibición de la agregación en forma de agregación máxima observada en la presencia del inhibidor, comparada con la agregación en ausencia del inhibidor. Las CI₅₀ se derivaron mediante análisis de regresión no lineal.

En las Tablas 2- 5 se dan ejemplos de los compuestos y de sus valores CI₅₀ de de syk y PRP.

Ensayo del flujo del calcio en células de Ramos, inducido por entrecruzamiento con BCR

50 Se subcultivan células de Ramos (2G6.4C10, linfoma de Burkitt, Número de producto de ATCC: CRL-1923) a razón de 5×10^5 células/ml en un medio fresco 3 ó 4 días antes de los experimentos. Se recogen las células y se las resuspende en medio fresco a razón de 8×10^6 células/ml antes de la carga con un material de teñido. Se añade un volumen igual de

5 teñido de carga de Calcium 3 (Molecular Device), y se mezcla en la suspensión de células. Las células de carga se dispensan en una placa de 96 pocillos y se incuban durante 30 minutos. Seguidamente se añaden los compuestos en las células cargadas con el material de teñido, y se incuban durante otros 30 minutos. Se centrifugan las células a 1.000 rpm durante 30 minutos antes de la medición de la fluorescencia en el FlexStation. Se lleva a cabo la estimulación de BCR mediante la adición de 5 µg/ml de fragmento de anticuerpo anti-IgM humana de burro (AffiniPure F(ab')₂, Jackson ImmunoResearch Laboratries).

Ensayo del flujo del calcio en células Jurkat, inducido por entrecruzamiento con TCR

10 El protocolo es muy similar al del flujo del calcio para las células B descrito en la sección anterior. Las únicas diferencias son que las células T (clon E6-1, leucemia aguda de células T, Número de producto de ATCC: Tib-152) y anti-CD3 humano (anti-CD3 humano purificado de grado funcional, clon OKT3, eBioscience, N.º 16-0037) reemplazaron las células B y el anti-IgM humano. Se mantiene la misma densidad de las células, pero el anticuerpo se utiliza a una concentración de 100 ng/ml.

Secreción de IL-2 en células de Jurkat, inducida por entrecruzamiento con TCR

15 Los procedimientos para la propagación de las células y para la incubación de compuesto son los mismos que los descritos en el ensayo del flujo de calcio de Jurkat en la sección anterior. Se aplica un recubrimiento con anticuerpo (anti CD3, OKT3) sobre una placa fresca (sin células) a razón de 100 ng/pocillo. Se suspenden las células a razón de 8×10^6 células/ml y se incuban con compuestos durante 30 minutos en una placa por separado. Al final de la incubación se transfieren las células a la placa recubierta de anticuerpo y se someten a incubación durante 16 horas. Después de la incubación se transfieren las células a la placa recubierta de anticuerpo, y se someten a incubación durante 16 horas. Se utilizan 100 µl de medio de células para la medición del IL-2 después de la incubación. Se determina el nivel del IL-2 mediante un kit IL-2 ELISA (Human IL-2 ELISA kit II, BD Bioscience, No. 550611).

Ejemplo 611 Cribado con Millipore Upstate KinaseProfiler™

25 Este ensayo es una medición directa del efecto del compuesto sobre la actividad catalítica del JAK3. Se obtuvo JAK3 humano purificado de secuencia (GenBank AF513860) (residuo 781 - C-terminal) a partir de células de insectos. Se mide la hidrólisis catalítica del ATP mediante un método de ligación con filtro radiométrico. La incubación de la quinasa con ³³[P]ATP y sustrato conduce a la incorporación de ³³[P] en el sustrato, que puede seguidamente separarse de los otros componentes de la reacción, por filtración. Se llevaron a cabo ensayos con ATP 10 µM y en la ausencia o presencia de compuesto 1, 0,3 ó 0,1 µM. Se expresó la actividad como % de inhibición del control.

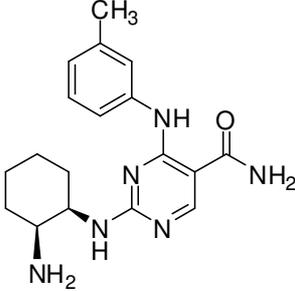
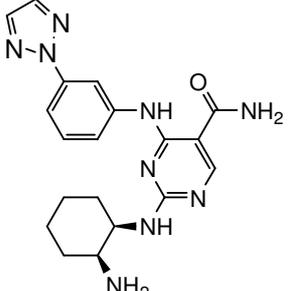
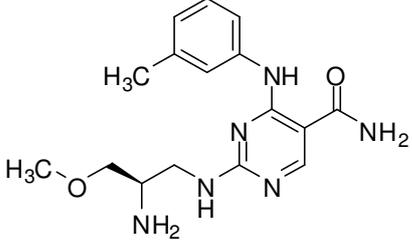
Ejemplo 612 Cribado con Ambit KinomeScan

30 Este ensayo es un ensayo de unión de competición dependiente del sitio de ATP, en el que unas quinasas humanas de interés son fusionadas a una etiqueta patentada (bacteriófago T7). Se mide la cantidad de quinasa ligada a un ligando inmovilizado, dirigido a sitio activo, en la presencia y ausencia del compuesto de ensayo. Los ensayos de Ambit's JAK utilizan dominios de quinasa y no proteínas de longitud completa. El dominio utilizado para la ligación de JAK1 es el dominio de pseudoquinasa, mientras que para la ligación del JAK3 es el dominio catalítico (Mazen W Karaman, Sanna Herrgard, Daniel K Treiber, et. al. A Quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity. Nature Biotechnology, 2008, Volumen26, No. 1, Página 127-132).

40

45

Tabla 6b Potencia y especificidad de la inhibición de la quinasa (CI50 en nM)

Compuesto	Syk	Jak 1	Jak 2	Jak 3
P142-76 	4	Sin inhibición a 500 nM	Sin inhibición a 500 nM	Sin inhibición a 500 nM
Ejemplo 87 	6	Sin inhibición a 300nM	Sin inhibición a 300nM	Sin inhibición a 300nM
Ejemplo de Referencia 596 	43	Sin inhibición a 300nM	Sin inhibición a 300nM	Sin inhibición a 300nM

Ejemplo 605 Ensayo celular con JAK3/STAT6

5 La estimulación de las células B de Ramos por la interleuquina 4 (IL4) conduce a una señalización a través de JAK1/JAK3, siendo el resultado la fosforilación de STAT6 (transductores de señales y activadores de la transcripción). Es posible evaluar el efecto de los compuestos sobre la inhibición de JAK3 y/o JAK1 midiendo la cantidad de STAT6 fosforilado. Esto se lleva a cabo mediante transferencia Western por medio de un anticuerpo específico de fosfo-STAT6.

10 Se suspendieron células B de Ramos en medio RPMI tamponado con Hapes 10 mM (2×10^7 células/ml). Las células (90 μ l) fueron inoculadas con 10 μ l de 3,3 μ g/ml de interleuquina 4 (R & D Systems Inc, cat # 204-IL; concentración final: 0,33 μ g/ml). Las incubaciones fueron de 10 minutos a 37°C en la ausencia o presencia de 2 μ l del compuesto diluido en

DMSO al 30%. Se terminaron las reacciones mediante la adición de volúmenes iguales de tampón de lisis 2x (TRIS-HCl 100 mM pH 8, Triton-X-100 al 0,2%, EDTA 5 mM, NaCl 250 mM, glicerol al 20%, PMSF 1,25 mM, ortovanadato de sodio 5 mM, β -glicerofosfato 5 mM, mezcla de inhibidores de proteasa EDTA completo (Sigma)).

5 Se incubaron las muestras con 1 μ l de la nucleasa, benzonasa (Novagen, cat # 71205-3) durante 1 hora, a la temperatura ambiente, seguidamente se añadieron 50 μ l 5x de tampón de carga (TRIS 330 mM pH 6,8, SDS al 9,5%, glicerol al 34%, azul bromofenol al 0,01%, beta-mercaptoetanol al 10%).

10 Los lisatos de células (15 μ l) se sometieron a SDS-PAGE (Novex 4-12%, geles de TRIS glicina, Invitrogen) bajo condiciones de reducción, seguido por transferencia de electroblot sobre membranas de microcelulosa. Seguidamente se incubaron las membranas en tampón de bloqueo Zymed (Invitrogen) durante 1 hora a la temperatura ambiente (TA) y seguidamente durante la noche a 4°C con 1:500 anticuerpo primario anti fosfotirosina - STAT6 (Cell Signaling Technology, cat # 9364) en tampón de bloqueo Zymed. Después de 5 lavados de 10 minutos con solución salina tamponada con Tris, NP40 al 0,25% (TBSN), se incubaron las transferencias durante 1 hora a temperatura ambiente en la presencia de 1:10.000 anticuerpo secundario anti-conejo de burro conjugado con HRP (Amersham Biosciences, cat # NA934V) en tampón de bloqueo Zymed. Después de 4 lavados durante 10 minutos con TBSN, se visualizaron las transferencias mediante ECL (Pierce Western Lightening, Perkin Elmer cat # NEL101). A efectos de determinar el contenido total de β 3, las transferencias se cortaron en tiras, se lavaron 4 veces con TBSN, y se reensayaron con 1:2.000 anticuerpo C3A en tampón de bloqueo durante la noche a 4°C. Después de 4 x 10 min lavados con TBSN, se incubaron las transferencias con 1:10.000 anticuerpo secundario anti-ratón de cabra en tampón de bloqueo, se lavó 4 veces más con TBSN y se expuso a reactivo Western Lightening. Mediante densitometría se determinaron los niveles de estimulación con respecto al fondo y el grado de la inhibición del compuesto.

Ejemplo 606 Ensayo de inhibición de la actividad de quinasa JAK para línea celular B Ramos estimulada con IL-4

25 Estos ejemplos ilustran métodos para evaluar las actividades *in vitro* e *in vivo* de la quinasa JAK humana de los compuestos inventivos que pueden determinarse por medio de varios procedimientos conocidos en la técnica, como por ejemplo el ensayo sobre su capacidad para inhibir la actividad de la quinasa JAK presente en el plasma humano. Las potentes afinidades para la inhibición de quinasa JAK humana que exhiben los compuestos inventivos pueden medirse mediante un valor CI_{50} (en nM). El valor CI_{50} es la concentración (en nM) del compuesto necesaria para proporcionar 50% de inhibición de la actividad de la quinasa JAK humana. Cuanto menor sea el valor CI_{50} , más activo (potente) será el compuesto para inhibir la actividad de quinasa JAK.

Un ensayo *in vitro* para detectar y medir la actividad de inhibición contra la quinasa JAK es el siguiente:

30 La actividad de los compuestos para las quinasas JAK se confirma en ensayos celulares diseñados para analizar la inhibición de JAK. Brevemente, la inhibición de JAK se prueba en células B Ramos humanas activadas con citoquinas interleuquina-4 (IL-4). Entre veinte a 24 horas después de la estimulación, las células se tiñen para la regulación positiva de CD23 y se analizan por medio de FACS (distribuidor celular activado por fluorescencia). La estimulación de las células B con IL-4 conduce a la activación de la ruta JAK/STAT a través de la fosforilación de la quinasa JAK, JAK1 y JAK 3, que a su vez fosforilan y activan factores de transcripción STAT-5 y STAT-6. La baja afinidad del receptor IgE (CD23) es regulada positivamente por STAT-5 activado.

40 Para el ensayo, se cultivan células B Ramos humanas (ATCC, Catálogo No. CRL-1596) en el medio de cultivo celular RPMI 1640 (Cellgro, Catálogo No. 10-040-CM) que contiene 10% de suero fetal bovino (JRH, Catálogo No. 12106-500M) de conformidad con el protocolo de propagación proporcionado junto con las células, y se mantienen a una densidad de aproximadamente $3,5 \times 10^5$ células/ml. El día previo al ensayo, las células se diluyen a $3,5 \times 10^5$ células/ml para asegurarse de que se encuentren en la fase logarítmica de crecimiento. Se centrifugan las células y se suspenden en el medio de cultivo celular RPMI 1640 (Cellgro, MediaTech, Inc., Herndon, Virginia, Catálogo No. 10-040-CM) que contiene 5-10% de suero fetal bovino (FBS), se desactivan con calor (JRH Biosciences, Inc, Lenexa, Kansas, Catálogo No. 12106-500M) según el protocolo de propagación ATCC. Se mantienen las células a una densidad de $3,5 \times 10^{4-5}$ células/ml. El día previo al experimento, se diluyen las células B Ramos a $3,5 \times 10^5$ células/mL para asegurarse de que se encuentren en la fase logarítmica de crecimiento y las alícuotas se colocan en una placa para cultivo celular de 96 pocillos. Las células se incuban con el compuesto de prueba (disuelto en dimetilsulfóxido) o dimetilsulfóxido (control) durante una hora a 37°C y luego son estimuladas con IL-4 (Pepotech, Catálogo No. 200-04) durante 20-24 horas (la concentración final es de 50 Unidades/ml).

50 Luego las células se centrifugan y se suspenden en RPMI con un 5% de suero. Las células 5×10^4 se usan por punto en una placa para cultivo de tejidos de 96 pocillos. Las células se preincuban con el compuesto o DMSO (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Catálogo No. D2650) que actúa como vehículo de control durante 1 hora a 37°C en incubadora. Luego se estimulan las células con IL-4 (Peprotech Inc., Rocky Hill, Nueva Jersey, Catálogo No. 200-04) para obtener una

concentración final de 50 unidades/mL durante 20-24 horas. Luego se centrifugan las células y se tiñen con anti-CD23-PE (BD Pharmingen, San Diego, California, Catálogo No. 555711) y se analizan mediante FACS (distribuidor celular activado por fluorescencia). La detección se realiza con un Sistema de Citómetro de Flujo BD LSR I, comprado a Becton Dickinson Biosciences de San José, California.

- 5 La proliferación se mide con un Ensayo de Viabilidad Celular por Luminiscencia CellTiter-Glo.RTM. (Promega), el cual determina la cantidad de células viables en cultivo sobre la base de la medición de la adenosina trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés) existente, como indicador de las células metabólicamente activas. El sustrato se descongela y se lleva a temperatura ambiente. Luego de mezclar el reactivo Cell Titer-Glo con el diluyente, se agregan 100 μ L en cada pocillo. Las placas se mezclan en un agitador orbital durante dos minutos para inducir la lisis y se incuban a temperatura ambiente durante diez minutos adicionales para permitir que la señal se equilibre. La detección se realiza con un contador de varios niveles Wallac Victor2 1420 comprado a Perkin Elmer, Shelton, Connecticut.

- 10 El segundo día, las células A549 se preincuban con un compuesto de prueba 2,4-pirimidina diamina o DMSO (control) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Misuri, Catálogo No. D2650) durante 1 hora. Luego las células se estimulan con IFN γ (75 ng/mL) (Peprotech Inc., Rocky Hill, Nueva Jersey, Catálogo No. 300-02) y se dejan incubar durante 24 horas. El intervalo de la dosis del compuesto de ensayo final es de 30 μ M a 14 nM en 200 μ L de medio F12K que contiene 5% FBS, 0,3% DMSO.

- 20 El tercer día se retira el medio celular y las células se lavan con 200 μ L de PBS (disolución salina tamponada con fosfato). Cada pocillo se tripsiniza para disociar las células, y luego se neutraliza mediante la adición de 200 μ L de medio F12K completo. Las células se sedimentan y se tiñen con un anticuerpo anti-ICAM-1 (CD54) humano de ratón conjugado con APC (BD Pharmingen, San Diego, California, Catálogo No. 559771) durante 20 minutos a 4°C. Las células se lavan con tampón FACS enfriado en hielo (PBS+2% FBS) y la expresión de ICAM-1 de superficie se analiza mediante citometría de flujo. La detección se realiza mediante el uso de un Sistema de Citómetro de Flujo BD LSR I, comprado a BD Biosciences de San José, California. Los eventos son controlados para la separación en vivo y la media geométrica se calcula (Becton-Dickinson CellQuest software versión 3.3, Franklin Lakes, Nueva Jersey). La media geométrica se representa frente a la concentración del compuesto para generar una curva de respuesta a la dosis.

- 25 Ejemplo 607: Inhibición de transducción de señal mediada por Syk a través del receptor célula B en líneas celulares de linfoma no-Hodgkin.

- 30 Las células fueron pre-tratadas durante 1 hora sin el compuesto o con éste (0,02 a 2 μ M) antes de la estimulación de la señalización del receptor de célula B por incubación de células con 3 μ g/ml de anticuerpo anti- μ durante 10 minutos a 37°C. El flujo de Ca²⁺ se midió con el agente de tinción de carga Calcium 3 y el FlexStation (Molecular Device). La señalización del receptor de célula B se ensayó con Citometría intracelular de flujo de fosfato, y se siguieron los protocolos proporcionados por BD Pharmingen (San José, California). La activación de Syk se midió por inducción de fosforilación de tirosina de BLNK en la posición de aminoácido 84 (pBLNK Y84) e inducción de fosforilación de tirosina de ERK1/2 en la posición de aminoácido 204 (pERK Y204). La activación del miembro de la familia Src Lyn se midió por inducción de fosforilación de tirosina de Syk en la posición de aminoácido 352 (pSyk Y352). Los datos se presentan como μ M CI₅₀. Cada compuesto inhibió efectivamente el flujo de Ca²⁺ inducido por el receptor de célula B y la activación de Syk, pero no el miembro de la familia Src Lyn.

40

45

Tabla 7A:

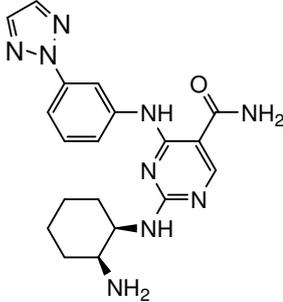
	Ramos
	Ejemplo 87 
Ca ²⁺	0,117
pBLNK Y84	0,5-0,75
pERK Y204	0,02-0,125
pSyk Y352	0,75-2

Tabla 7B:

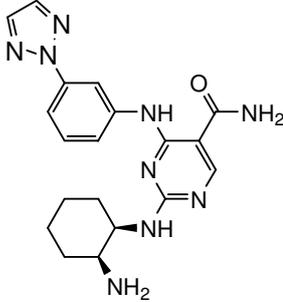
	SUDHL-6
	Ejemplo 87 
Ca ²⁺	0,111
pBLNK Y84	0,1-0,3
pERK Y204	0,1
pSyk Y352	>2

Tabla 7C:

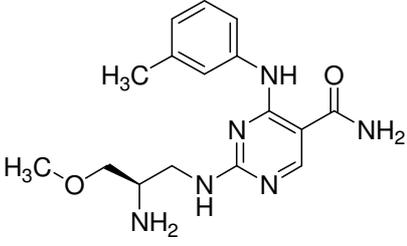
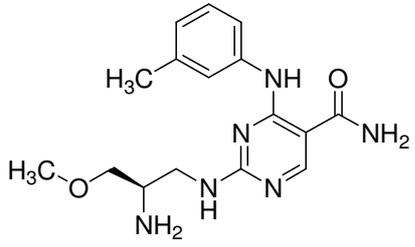
Ramos	
Ejemplo de Referencia 596	
	
Ca ²⁺	0,123
pBLNK Y84	0,5-0,75
pERK Y204	0,02-0,125
pSyk Y352	>2

Tabla 7D:

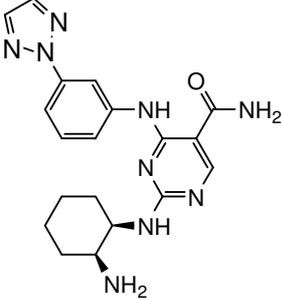
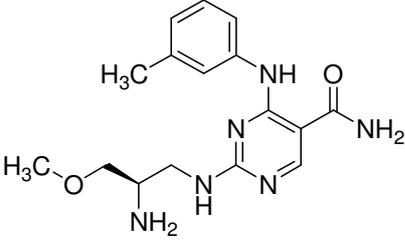
SUDHL-6	
Ejemplo de Referencia 596	
	
Ca ²⁺	0,057
pBLNK Y84	0,1-0,3
pERK Y204	0,1
pSyk Y352	>2

5 Ejemplo 608: la inhibición de Syk ejerce un efecto anti-proliferativo sobre las líneas celulares de linfoma no- Hodgkin

Las células fueron incubadas con concentraciones en aumento de cada compuesto, y luego se evaluaron a las 72 horas para analizar el alcance de la proliferación con el ensayo MTT (empresa, ciudad, estado), siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante. La información se presenta como valores CI50 μ M, representando la meda más/menos la desviación estándar a partir de 5 ó 6 experimentos independientes. Cada compuesto inhibió la proliferación de líneas celulares SUDHL-4 y -6, que dependen de Syk para su supervivencia y señales de crecimiento, en el rango μ M bajo. Las células Toledo que no requieren Syk, fueron claramente menos sensibles a los efectos anti-proliferativos de la inhibición de Syk.

10

Tabla 8

	SUDHL-4	SUDHL-6	Toledo
<p>Ejemplo 87</p> 	1,8±0,7 (5)	1,1±0,4 (5)	9,3±4,0 (5)
<p>Ejemplo de Referencia 596</p> 	5,4±1,8 (5)	2,6±1,4 (5)	38±19 (5)

Ejemplo 609: La inhibición de Syk induce la apoptosis en líneas celulares de linfoma no-Hodgkin

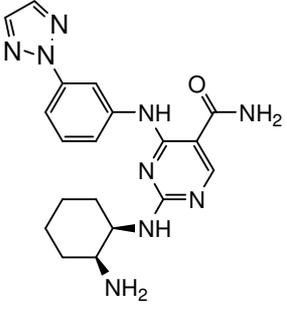
5 Los datos representan dos experimentos independientes para evaluar el efecto de inhibición de Syk y Syk/JAK sobre la supervivencia de líneas celulares B amplias difusas de linfoma no-Hodgkin. Las líneas celulares SUDHL-4 y SUDHL-6 dependen de señalización del receptor de célula B mediado por Syk para su supervivencia, mientras que las células Toledo no. Las células se incubaron con compuestos en las concentraciones y períodos indicados; la inducción de apoptosis se midió por citometría de flujo con el Kit de Detección Caspase 3 (Sigma-Aldrich, Saint Luis, Misuri). La información se presenta como el porcentaje del total de células positivas para la detección de apoptosis, caspase 3.

10 como se esperaba, la inhibición de Syk resultó en la inducción de apoptosis en líneas celulares SUDHL-4 y -6, pero no en la línea celular Toledo.

15

20

Tabla 9A:

SUDHL-4			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	8,7	10,7	9,9
3uM	18,5	32,3	32,6
10uM	34,5	59,4	75,3

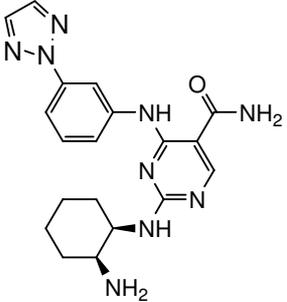
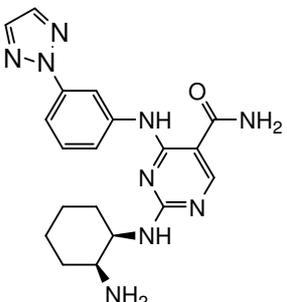
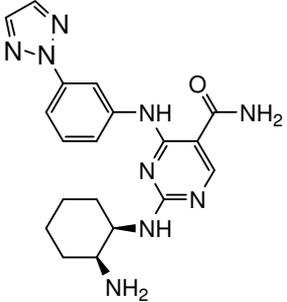
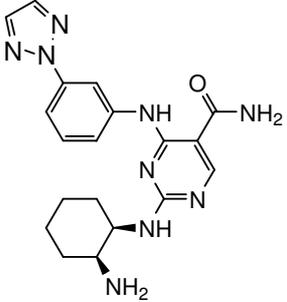
SUDHL-6			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	11	20,2	20,4
3uM	22,5	54,9	71
10uM	12,1	27,3	38,7
Toledo			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	0,6	0,3	1,2
3uM	0,8	0	1,8
10uM	1	3,3	4,3

Tabla 9B

SUDHL-4			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	6,6	7,2	7,6
3uM	13,6	19,7	23,4
10uM	20,4	43,9	57,4
SUDHL-6			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	12,9	21,9	15
3uM	19,9	39,5	34,6
10uM	12,5	19,9	23,5

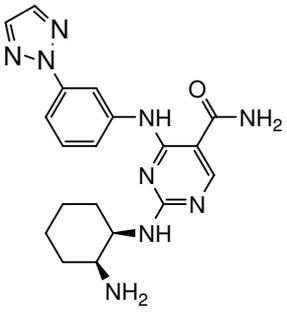
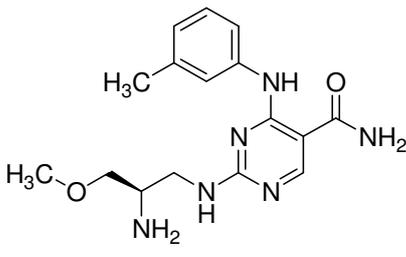
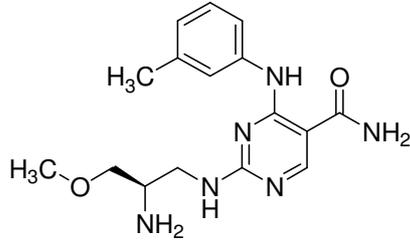
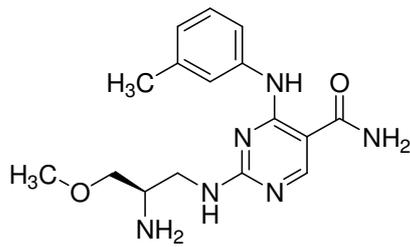
Toledo			
	Ejemplo 87		
			
	24h	48h	72h
1uM	0	0,2	0,5
3uM	0	0,1	0,2
10uM	0	0,9	2,5

Tabla 9C:

	Ejemplo de Referencia 596		
			
	24h	48h	72h
1uM	1,1	0,9	5,8
3uM	4,9	3,5	5,2
10uM	12,4	16,7	15,5

SUDHL-6			
	Ejemplo de Referencia 596		
			
	24h	48h	72h
1uM	8,3	11,6	10,6
3uM	15,1	23,7	17,8
10uM	17,8	37,3	32,4
Toledo			
	Ejemplo de Referencia 596		
			
	24h	48h	72h
1uM	0	0,1	0,2
3uM	0	0	0,1
10uM	0	0,2	0,7

Ejemplo 610: Inhibición de la activación de células B primarias de ratón por medio de inhibidores de Syk

- 5 Los esplenocitos primarios de ratones se pre-trataron durante 1 hora con concentraciones en aumento de cada compuesto (0,05 - 2µM) antes de la adición de suero de control o suero de cabra anti-IgD de ratón. La activación de células B inducida por anti-IgD se midió 16 horas después por citometría de flujo, tiñéndose para los marcadores de activación CD80/86 y CD69. Los datos representan los rangos CI₅₀ para la inhibición de la activación de células B.

Tabla 10:

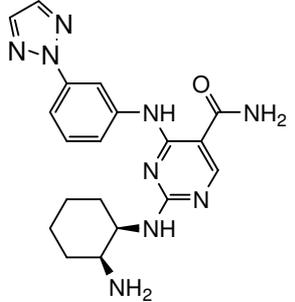
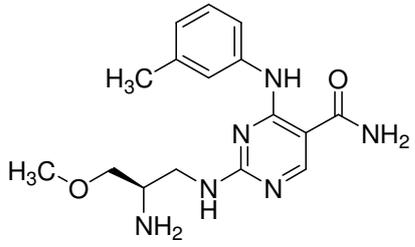
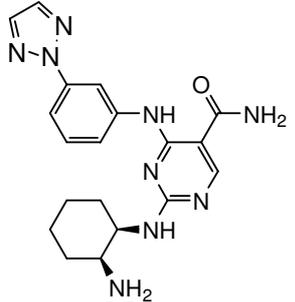
	CD69	CD80/86
Ejemplo 87 	<0,05	0,05-0,125
Ejemplo de Referencia 596 	<0,05	0,125-0,25

Tabla 11:

	CD69	CD80/86
Ejemplo 87 	<0,05	0,125-0,25

<p>Ejemplo de Referencia 596</p>	0,125-0,25	0,125-0,25
----------------------------------	------------	------------

Ejemplo 611: Modelo de ratón de trombocitopenia mediada inmunitariamente

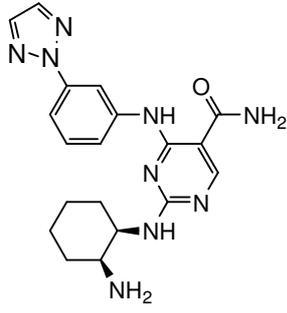
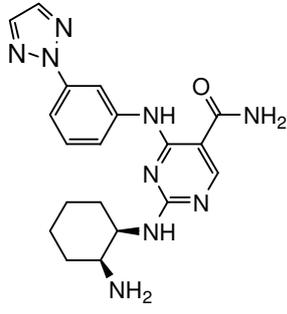
5 La trombocitopenia mediada inmunitariamente es causada por anticuerpos dirigidos contra las glicoproteínas de la superficie de las plaquetas, anticuerpos contra complejos que contienen fármacos en la superficie de las plaquetas, o células recubiertas por anticuerpos o complejos inmunes que interactúan con la superficie de la plaqueta. Los compuestos seleccionados fueron evaluados según su capacidad para inhibir el aclaramiento de plaquetas en un ratón modelo con trombocitopenia ocasionada por anticuerpos. En este modelo, un aclaramiento rápido de las plaquetas circulantes (aproximadamente 50%) resulta de la administración intravenosa de anticuerpo de rata anti-GPIIb de ratón (clon MWReg30) (BD Biosciences, Pharmingen). Para evaluar la capacidad de inhibición del aclaramiento de plaquetas, los compuestos se suspendieron en 0,5% de metil celulosa en agua y se administraron por sonda nasogástrica (100 ul/ratón) previo a la inyección de anticuerpos cuando el compuesto alcanzaría una máxima concentración plasmática (generalmente 1 - 2 horas según experimentos farmacocinéticos por separado para compuestos individuales). A las 4 y a las 8 horas después de la inyección del anticuerpo, se obtuvieron muestras de sangre terminal de grupos de vehículo y de ratones bajo tratamiento con el producto (n=5-10 ratones/grupo) por medio de punción cardíaca. La sangre se anticoaguló con citrato trisódico o EDTA. Las muestras de sangre completas se midieron para conocer las cantidades de plaquetas en un analizador hematológico (Hemavet, Drew Scientific). La sangre restante se procesó para medir las concentraciones plasmáticas y del compuesto por espectometría de masa.

20 El aclaramiento de plaquetas se determinó por la medición de la diferencia en el número de plaquetas entre el grupo promedio de tratamiento sin anticuerpos y los animales a los que se les había administrado el anticuerpo de rata anti-GPIIb de ratón. La inhibición del aclaramiento de plaquetas se determinó mediante la comparación de la diferencia entre el aclaramiento de plaquetas en animales bajo tratamiento con vehículo y con compuesto.

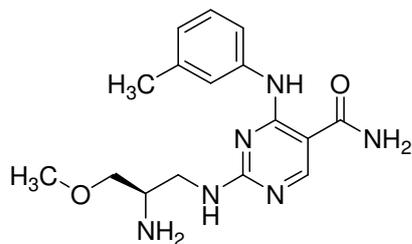
25

30

Tabla 12.

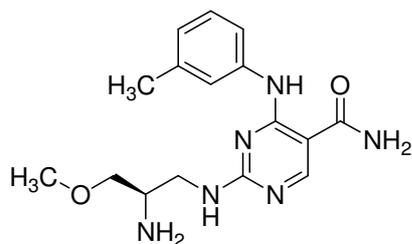
Dosis del compuesto	Pico promedio de concentración de plasma (μm)	inhibición promedio de aclaramiento de plaquetas (4 hrs)	inhibición promedio (%) de aclaramiento de plaquetas (8 hrs)
<p>Ejemplo 87</p>  <p>30 MG/KG/DÍA</p>		27% *	12%
<p>Ejemplo 87</p>  <p>10 MG/KG/DÍA</p>		7%	13%
<p>* INDICA UNA REDUCCIÓN ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA EN LA PUNTUACIÓN DE INFLAMACIÓN CLÍNICA EN COMPARACIÓN CON EL VEHÍCULO CONTROL ANALIZADO POR ENSAYO DE LA T DE STUDENT DE 2 COLAS, NO EMPAREJADO</p>			

Dosis del compuesto	Pico promedio de concentración de plasma (μM)	Inhibición promedio (%) de la puntuación de inflamación
Ejemplo de Referencia 596	10,2 μM	88% *



100 mg/kg/día

Ejemplo de Referencia 596	4,4 μM	27% *
---------------------------	-------------------	-------



30 mg/kg/día

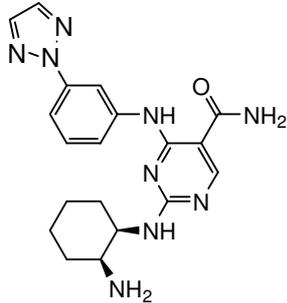
* Indica una reducción estadísticamente significativa en la puntuación de inflamación clínica en comparación con el vehículo control analizado por ensayo de la t de student de 2 colas, no emparejado

Ejemplo 612: Modelo de ratón de artritis inducida por anticuerpos de colágeno

- 5 La actividad inhibidora de los compuestos seleccionados se investigó en un modelo de ratón de artritis inducida por anticuerpos de colágeno (CAIA). La artritis inducida por colágeno es mediada por autoanticuerpos a colágeno de tipo II y complemento, por lo tanto la artritis puede ser inducida por la administración de anticuerpos policlonales o una mezcla de anticuerpos monoclonales a colágeno tipo II. El modelo CAIA (Chondrex, Inc., Redmond, Washington) emplea una mezcla de 4 clones que reconocen epítopos individuales aglomerados en un fragmento de péptido de 83 aminoácidos de colágeno tipo II. Estos epítopos comparten secuencias de aminoácidos comunes con muchas especies diferentes de colágeno de tipo II entre las que se incluyen pollos, ratones, ratas, bovinos, porcinos, monos y humanos. El modelo utiliza una mezcla de anticuerpos monoclonales seguido por un lipopolisacárido (LPS) bacteriano para inducir una artritis severa y consistente en ratones dentro de los 7 días. Este modelo se desarrolló sobre la hipótesis de que las toxinas bacterianas absorbidas a través del tracto gastrointestinal tienen un papel rol sinérgico y patológico con anticuerpos al colágeno tipo II en el desencadenamiento de artritis en pacientes con Artritis Reumatoide.

Para estos experimentos, la mezcla de anticuerpos monoclonales (Lote# OC-708) se introdujo mediante inyección intravenosa en la vena de la cola en una dosis de 4 mg/ratón (40 mg/ml) en el día 0 seguido por una inyección intraperitoneal de LPS diluido en disolución salina normal en una dosis de 25 μg /ratón en un ratón de 8 semanas de edad, de sexo femenino, Balb/C (Charles River, Inc.). La dosificación de los productos de prueba comenzó justo antes o justo después de la inyección IV de la mezcla de anticuerpos. Los compuestos se suspendieron en 0,5% de metilcelulosa en agua y se administraron a través de sonda nasogástrica (100 μl /ratón) diariamente a lo largo del estudio que tuvo una duración de 7-10 días. Las puntuaciones de inflamación clínica se determinaron a diario. Las puntuaciones de inhibición de la inflamación clínica se determinaron en base a la diferencia entre los ratones tratados con el vehículo y los tratados con el producto al final del experimento. Las concentraciones plasmáticas representan picos de concentración una hora después de la última dosis en el día de finalización del estudio.

Tabla 13.

Dosis del compuesto	Pico promedio de concentración plasmática (μM)	Inhibición promedio (%) de puntuación de inflamación
<p>Ejemplo 87</p>  <p>30 mg/kg/día</p>	7,8 μM	44% *
<p>* Indica una reducción estadísticamente significativa en la puntuación de inflamación clínica en comparación con el vehículo control analizado por ensayo de la t de student de 2 colas, no emparejado</p>		

Ejemplo 613: Inhibición de la fosforilación JAK1/3 a Stat-6 inducida por IL-4 en células B Ramos

- 5 Las células B Ramos se pre-trataron durante 1 hora con concentraciones en aumento del compuesto, tal como se indicó antes de la adición de IL-4. Las células se incubaron con IL-4 durante 10 minutos, y luego se les realizó citometría de flujo intracelular para medir el porcentaje de inhibición de Stat-6 inducido por IL-4.

Ejemplo 614: Inhibición de la fosforilación JAK1/3 a Stat-6 inducida por IL-4 en células B Ramos

- 10 Las células B Ramos se pre-trataron durante 1 hora con concentraciones en aumento del compuesto, como se indicó antes de la adición de IL-4. Las células se incubaron con IL-4 durante 10 minutos, y luego se les realizó citometría de flujo intracelular para medir el porcentaje de inhibición de Stat-6 inducido por IL-4.

Ejemplo 615 Ensayo de proliferación de células T primarias humanas estimuladas con IL-2

- 15 Las células T primarias humanas derivadas de sangre periférica y preactivadas a través de la estimulación del receptor de célula T y CD28 proliferan in vitro en respuesta a la citoquina interleuquina-2 (IL-2). Esta respuesta proliferativa depende de la activación de las tirosina quinasas JAK-1 y JAK-3, que fosforilan y activan el factor de transcripción Stat-5.

- 20 Las células T primarias humanas se preparan de la siguiente manera. Se obtiene sangre completa de un voluntario sano, se mezcla 1:1 con PBS, se estratifica por la técnica Fycoll Hypaque (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, Nueva Jersey, Catálogo No. 17-1440-03) en una proporción 2:1 sangre/PBS:fycoll y se centrifuga durante 30 minutos a 4°C a 1.750 rpm. Los linfocitos en la interfase suero:ficoll se recuperan y se lavan dos veces con 5 volúmenes de PBS. Las células se re-suspenden en un medio Yssel (Gemini Bio-productos, Woodland, California, Catálogo No. 400-103) que contiene 40 U/mL IL2 recombinante (R and D Systems, Mineápolis, Minesota, Catálogo 202-IL (20 μg)) y se siembran en un matraz pre-cubierto con 1μg/mL anti-CD3 (BD Pharmingen, San Diego, California, Catálogo No. 555336) y 5 μg/mL anti-CD28 (Immunotech, Beckman Coulter of Brea California, Catálogo #IM1376). Las células T primarias son estimuladas durante 3 a 4 días, luego se transfieren a un matraz fresco y se mantienen en RPMI con 10% de FBS y 40 U/ml IL-2.
- 25

Las células T primarias se lavan dos veces con PBS para remover el IL-2 y son resuspendidas en medio Yssel a 2×10^6 células/mL. 50 μ L de suspensión celular que contienen 80 U/mL IL-2 se agregan en cada pocillo de una placa de fondo plano de 96 pocillos. Para el control sin estimulación, se omite IL-2 de la última columna de la placa. Los compuestos se disuelven seriadamente en dimetil sulfóxido (DMSO, 99,7% puro, ensayado para cultivo celular, Sigma-Aldrich, St. Louis, Misuri, Catálogo No. D2650) de 5 mM en diluciones de 3 veces y luego se disuelve 1:250 en medio Yssel. 50 μ L de compuesto 2X se agregan en cada pocillo por duplicado y se dejan proliferar las células durante 72 horas a 37°C.

La proliferación se mide con el Ensayo de Viabilidad Celular por Luminiscencia CellTiter-Glo.RTM., que determina la cantidad de células viables en cultivo sobre la base de la cantidad de ATP existente, como indicador de las células metabólicamente activas. El sustrato se descongela y se lleva a temperatura ambiente. Luego de mezclar el reactivo Cell Titer-Glo con el diluyente, se agregan 100 μ L en cada pocillo. Las placas se mezclan en un agitador orbital durante dos minutos para inducir la lisis y se incuban a temperatura ambiente durante diez minutos adicionales para permitir que la señal se equilibre. La detección se realiza con un contador de varios niveles Wallac Victor2 1420 comprado a Perkin Elmer, Shelton, Connecticut.

Ejemplo 616 Línea epitelial A549 estimulada con IFN γ

Las células epiteliales de pulmón A549 regulan positivamente la expresión de superficie ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de estímulos diferentes. Por lo tanto, usando la expresión de ICAM-1 como resultado, se pueden determinar los efectos del compuesto en diferentes rutas de señalización para el mismo tipo celular. IFN γ regula positivamente ICAM-1 a través de la activación de la ruta JAK/Stat. En este ejemplo, se evalúa la regulación positiva de ICAM-1 por IFN γ .

La línea celular de carcinoma epitelial de pulmón A549 provino de la American Type Culture Collection. El cultivo de rutina se realiza con un medio F12K (Mediatech Inc., Lenexa, Kansas, Catálogo No. 10-025-CV) con 10% de suero fetal bovino, 100 UI de penicilina y 100 ng/mL de estreptomycin (medio completo F12k). Las células se incuban en una atmósfera humidificada de 5% CO $_2$ a 37°C. Antes de su empleo en el ensayo, las células A549 se lavan con PBS y se tripsinizan (Mediatech Inc., Catálogo No. 25-052-CI) para despegar las células. La suspensión celular en tripsina se neutraliza con medio completo F12K y se centrifuga para sedimentar las células. El sedimento celular se re-suspende en un medio F12K completo a una concentración de $2,0 \times 10^5$ /mL. Las células se siembran a 20.000 por pocillo, 100 μ L de volumen total, en una placa de fondo plano para cultivo de tejidos para su adhesión durante la noche.

El segundo día, las células A549 se pre-incuban con el compuesto de prueba 2,4-pirimidina diamina o DMSO (control) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., Catálogo No. D2650) durante 1 hora. Luego las células se estimulan con IFN γ (75 ng/mL) (Peprotech Inc., Rocky Hill, N.J., Catálogo No. 300-02) y se dejan incubar durante 24 horas. El rango de dosis final del compuesto de prueba es de 30 μ M a 14 nM en un medio de 200 μ L F12K que contiene 5% FBS, 0,3% DMSO.

El tercer día se retira el medio celular y las células se lavan con 200 μ L de PBS (disolución salina tamponada con fosfato). Cada pocillo se tripsiniza para disociar las células, y luego se neutraliza mediante la adición de 200 μ L medio F12K completo. Las células se sedimentan y se tiñen con anticuerpo anti-ICAM-1 humano de ratón (CD54) conjugado con APC (BD Pharmingen, San Diego, California, Catálogo No. 559771) durante 20 minutos a 4°C. Las células se lavan con tampón FACS enfriado en hielo (PBS+2% FBS) y la expresión de ICAM-1 de superficie se analiza mediante citometría de flujo. La detección se realiza mediante el uso de un Sistema de Citómetro de Flujo BD LSR I, comprado a BD Biosciences de San José, California. Los eventos son controlados para la separación in vivo y se calcula la media geométrica (Becton-Dickinson CellQuest software versión 3.3, Franklin Lakes, N.J.). La media geométrica se representa frente a la concentración del compuesto para generar una curva de respuesta a la dosis.

Ejemplo 617 Ensayo FACS U937 IFN γ /ICAM1

Las células monocíticas humanas U937 regulan positivamente la expresión de superficie ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de estímulos diferentes. Por lo tanto, al usar la expresión ICAM-1 como resultado, se pueden determinar los efectos del compuesto en diferentes rutas de señalización para el mismo tipo celular. IFN γ regula positivamente ICAM-1 a través de la activación de la ruta JAK/Stat. En este ejemplo, se evalúa la regulación positiva de ICAM-1 por IFN γ .

La línea celular monocítica humana U937 se obtiene de ATCC de Rockville, Md., catálogo número CRL-1593.2, y se cultiva en un medio RPMI-1640 que contiene 10% (v/v) FCS. Las células U937 se plaquean en 10% del medio celular RPMI. Luego las células se ubican en placas en una concentración de 100.000 células cada 160 μ L en placas de fondo plano de 96 pocillos. Luego los compuestos de prueba se diluyen de la siguiente manera: 10 mM del compuesto de prueba se diluyen en 1:5 en DMSO (3 μ L 10 mM compuesto de prueba en 12 μ L DMSO), seguido por una dilución seriada 1:3 del compuesto de prueba en DMSO (6 μ L compuesto de prueba diluido seriadamente en 12 μ L DMSO para

proporcionar diluciones de 3 veces). Luego se transfieren 4 μL del compuesto de prueba a 76 μL de 10% RPMI lo que resulta en una solución 10X (100 μM compuesto de prueba, 5% DMSO). Para los pocillos control, 4 μL de DMSO se diluyen en 76 μL 10% RPMI.

5 El ensayo se realiza en duplicado con 8 puntos (8 concentraciones de dilución de 3 veces de 10 μL) y con 4 pocillos con DMSO únicamente (pocillos control) bajo condiciones de estímulo y 4 pocillos con DMSO únicamente sin condiciones de estímulo.

10 La placa con el compuesto diluido se mezcla 2X utilizando un multimek (Beckman Coulter of Brea, Calif.) y luego se transfieren 20 μL de los compuestos diluidos a la placa de 96 pocillos que contiene 160 μL de células, que luego se mezclan nuevamente dos veces a baja velocidad. Luego las células y los compuestos se pre-incuban durante 30 minutos a 37°C con 5% CO₂.

La mezcla de estimulación 10X se realiza mediante la preparación de una solución de 100 ng/ml de IFN γ humano en 10% RPMI. Luego las células y el compuesto se estimulan con 20 μL de la mezcla de estimulación IFN γ para proporcionar una concentración final de 10 ng/mL IFN γ , 10 μM del compuesto de prueba y 0.5% DMSO. Las células se mantienen bajo condiciones de estimulación durante 18-24 horas a 37°C con 5% CO₂.

15 Las células se transfieren a una placa de 96 pocillos con fondo redondeado para su teñido y luego se mantienen en hielo a lo largo de la duración del proceso de coloración. Luego las células se centrifugan a 1.000 rpm durante 5 minutos a 4°C y seguidamente se retira el sobrenadante. Después de retirar el sobrenadante, se agrega 1 μL de anticuerpo anti-ICAM-1 humano de ratón conjugado con APC por 100 μL tampón FACS. Luego las células son incubadas en hielo a oscuras durante 30 minutos. Luego de la incubación se agregan 150 μL de tampón FACS y las células se centrifugan a 20 1.000 rpm durante 5 minutos a 4°C, y seguidamente se extrae el sobrenadante. Después de retirar el sobrenadante, se agregan 200 μL de tampón FACS y las células se re-suspenden. Después de la suspensión, las células se centrifugan a 1.000 rpm durante 5 minutos a 4°C. El sobrenadante se retira antes de la re-suspensión de las células en 150 μL de tampón FACS.

25 La detección se realiza con un Sistema de Citometría de Flujo BD LSR I, comprado a BD Biosciences de San José, California. Las células vivas se controlan para la separación en vivo y se mide la media geométrica de ICAM-APC (Becton-Dickinson CellQuest software versión 3.3, Franklin Lakes, N.J.). Se analiza el % de células vivas y la expresión de ICAM-1. Los ensayos para los compuestos de prueba se realizan en paralelo con un compuesto control de actividad conocida. La CE₅₀ para el compuesto control es típicamente 40-100 nM.

Ejemplo 618 Análisis de la señalización de células B

30 Las líneas celulares B de linfoma no-Hodgkin SUDHL-4 (#ACC 495), SUDHL-6 (#ACC572), y Karpas-422 (#ACC32) se obtuvieron de DSMZ (Braunschweig, Alemania); Toledo (#CRL-2631) y Ramos (#CRL-1596) se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, Virginia). Todas las células se mantuvieron en un medio celular RPMI (Invitrogen, Carlsbad, California) complementado con 10% de suero fetal bovino (ATCC) y penicilina/estreptomomicina (Invitrogen), y se mantuvieron en una incubadora de cultivo de tejido humidificada a 37°C. Los anticuerpos usados en estos estudios incluyen anticuerpos policlonales de cabra anti IgG humana (H+L) F(ab)'2 y anticuerpos anti-IgM humana (BioSource, Camarillo, California); anti-Syk humano de conejo, anti-fosfo Syk humano de conejo (Y525/526), anti-fosfo Syk humano de conejo (Y352), anti-BLNK humano, anti-fosfo-BLNK humano (Y84) se obtuvieron de Cell Signaling Technologies, Inc. (Danvers, Massachusetts). Los siguientes anticuerpos se compraron a Becton Dickenson (San José, California) para fosfo-citometría de flujo: anti-fosfo-STAT6 humano de ratón conjugado con Alexa fluor 488 (Y641), anti-fosfo-Zap70 humano de ratón conjugado con ficoeritrina (PE) (Y319)/Syk(Y352), y anti-fosfo-ERK1/2 humano de ratón conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (T202/Y204).

45 La citometría de flujo de fosfato se realizó sustancialmente de la forma que se describe en otros lugares (Irish, Czerwinski et al. Blood 108(9): 3135-42 (2006). 0,5x10⁶ células en medio de crecimiento se estimularon con 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ anticuerpo anti- μ o anti- γ durante 10 minutos. La señalización inducida se terminó inmediatamente una vez cumplido el tiempo indicado y seguidamente se agregó paraformaldehído (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA) hasta una concentración final de 1%. Las células se incubaron con paraformaldehído durante 5 minutos a temperatura ambiente, se lavaron una vez con disolución salina tamponada con fosfato (PBS), luego se re-suspendieron y se incubaron durante la noche a 4°C en metanol pre-enfriado (-80°C) (empresa, domicilio). Las células fijadas y permeabilizadas se lavaron seguidamente una vez en PBS, una segunda vez en PBS que contenía 1% de albúmina de suero bovino (BSA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), y luego se colorearon con los anticuerpos indicados diluidos 1:20 en PBS + 1% BSA. Después de 30 minutos, las células se lavaron una vez en PBS y se les realizó citometría de flujo con FACS Calibur (Becton Dickenson). Para los análisis de transferencia Western, se estimularon 10⁶ células durante 30 minutos con 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de los anticuerpos indicados específicos de BCR. La señalización finalizó con la re-suspensión de las células en la solución de

lisis y su incubación en hielo durante 1 hora. Los residuos celulares se extrajeron por centrifugado, y los lisatos proteínicos sedimentados se resolvieron por 10% SDS-PAGE y se analizaron con los anticuerpos indicados en cumplimiento con las recomendaciones del fabricante. En los casos indicados, las células se pre-trataron durante 1 hora a 37°C con inhibidores de Syk o vehículo control (0,5% DMSO) en varias concentraciones antes a la estimulación con anticuerpo anti-BCR.

Ejemplo 619 Inhibición selectiva de la actividad Syk

Se analizó la capacidad de los compuestos para inhibir Syk purificado. Se determinó que el Ejemplo de Referencia 596 y ejemplo **87** (dos compuestos de una serie de específica Syk como se muestra en la **Tabla 1b**) y P420-89 (de una serie con actividades inhibitoras duales Syk y JAK) suprimen la actividad quinasa Syk con CI50s de 43nM, 6nM, y 31nM, respectivamente. La selectividad de estos compuestos para Syk se determinó mediante la evaluación de cada uno con un panel de 270 quinasas purificadas independientes a 300nM (Millipore). El porcentaje de inhibición relativo al vehículo control se calculó y los números se convirtieron a un mapa de calor; la no inhibición se representó en verde, la combinación en aumento con rojo indica un porcentaje en aumento de inhibición con amarillo representando el 50% de inhibición y el rojo representando un 100% de inhibición (**Figura 9**). Tal como se muestra en la **Figura 9A**, el Ejemplo de Referencia 596 y ejemplo 87 fueron altamente específicos para Syk (primera y segunda filas, respectivamente) mientras que P420-89 inhibió quinasas múltiples (tercera fila). El subgrupo de quinasas que fueron inhibidas en un ≥80% por cualquiera de los tres compuestos se muestra en la Figura 9B. El Ejemplo de Referencia 596 inhibió Syk y MLK-1 (primera fila). A 300nM el ejemplo **87** inhibió 10 quinasas diferentes (segunda fila). Al ser re-analizados a 50nM (aproximadamente 10x por encima de su valor CI50 de Syk de 6nM), sin embargo, Syk fue la única quinasa que permaneció inhibida (tercera fila). P420-89 inhibió Syk, JAK2 y JAK3, junto con muchas otras quinasas (cuarta fila).

Con el uso del panel Millipore de quinasas purificadas el EJEMPLO 87 (CI₅₀ = 1nM) inhibió el 98% de la actividad de la actividad quinasa de Syk purificado a 50nM. Los valores CI50 se determinaron para aquellas quinasas que fueron inhibidas en >80% a 300nM en el panel quinasa Millipore.

Quinasa	CI50 (nM)
Syk(h)	1
MLK1	60
Fgr(h)	81
Yes(h)	123
Flt3(h)	139
PAK5	166
Lyn(h)	199
cSRC(h)	244
Lck(h)	300

Por el contrario, el inhibidor multi-quinasa P420-89 es más similar a R788 de Rigel. A 300nM, P420-89 inhibió Syk en 88%, junto con >80% de inhibición de 32 quinasas adicionales. Entre éstas estaban JAK 2 y 3 (93% y 85% inhibidas, respectivamente), Flt-3 (83-92% inhibidas), y cKit (95-97% inhibidas), todos objetivos para la manipulación terapéutica de la función linfocitaria.

Ejemplo 620 Ensayo del flujo de calcio e inhibición selectiva de Syk en líneas celulares B de linfoma no-Hodgkin

Las células Ramos se cultivaron (se mantuvieron aproximadamente 0,5 x10⁶ células/ml) en medio de crecimiento entre 3 y 4 días antes de los experimentos. Las células se recogieron y se re-suspendieron en un medio fresco a 8x10⁶ células/ml antes de la carga de tinte. Se agregó un volumen equivalente de tinte Calcium 3 (Molecular Device,

Sunnyvale, CA) a las suspensiones celulares. Las células cargadas se colocaron en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante 20 minutos. Luego se agregaron los inhibidores de Syk a las células cargadas y se incubaron durante otros 30 minutos. Las células B se estimularon con 5µg/ml de anticuerpo anti-µ. Los cambios en la concentración intracelular de Ca²⁺ se midieron con FlexSTATION (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

5 La selectividad y potencia de la inhibición de Syk en células B se analizó inicialmente por medio de transferencia Western, con lo que se midió la inducción mediada por BCR de pSyk Y525/526 y pBLNK Y84, ambas medidas de la actividad quinasa Syk, y la inducción de pSyk Y352, una medida de la actividad quinasa Src. Las células SUDHL-6 B fueron estimuladas con anticuerpo específico anti-BCR durante 30 minutos en presencia o ausencia de cada inhibidor de Syk o vehículo control. El tratamiento con 0,16 ó 1µM de cada compuesto redujo la autofosforilación Syk inducida por BCR (Y525/526) en aproximadamente 40% y 60%, respectivamente, según lo estimado por densitometría (datos no mostrados). Se usó un rango expandido de concentraciones para seguir evaluando el efecto de estos compuestos sobre la actividad quinasa Syk y Src inducida por BCR. Como se muestra en la **Figura 10, A-C**, cada compuesto inhibió la actividad Syk (pBLNK Y84) con valores CI50 que iban desde 0,16 a 1µM, mientras que no se observó ningún efecto sobre la actividad Src (pSyk Y352) a tan alto como 2,5µM.

15 También se midió la capacidad de cada compuesto para suprimir los eventos de señalización más distantes al BCR. Las células se estimularon nuevamente con anticuerpo anti-BCR en presencia o ausencia de varias concentraciones de cada inhibidor de Syk. La inducción de pSyk Y352 se midió como un control de especificidad, mientras que la de pERK1/2/Y204 se usó como medida de señalización dependiente de Syk más lejana (Jiang, Craxton et al. J Exp Med 188(7): 1297-306 (1998)). La **Figura 13C** muestra representaciones FACS representativas que ilustran el efecto del inhibidor Syk más específico y potente de los tres, ejemplo 87, en la señalización de BCR. A 125nM, la activación de ERK1/2 se suprimió completamente, mientras que las células estimuladas seguían dando coloración positiva para Syk Y352. Se repitió este experimento, en el cual se determinó el efecto de los tres compuestos sobre la actividad Src y Syk (**Figura 11A**). Concentraciones de menos de 125nM fueron suficientes para suprimir la señalización Syk inducida por BCR a ERK1/2. Por el contrario, se necesitaron concentraciones mucho más grandes para lograr una supresión modesta de la actividad Src: un efecto sobre Src que no se observó por medio de la prueba de transferencia Western (**Figura 10, A-C**). Ninguno de estos inhibidores de Syk suprimió la fosforilación de tirosina ERK1/2 inducida por PMA, con lo que se demostró que estos compuestos no inhiben los eventos de señalización aguas debajo de PKC.

Mientras que el Ejemplo de Referencia 596 y el ejemplo 87 específicamente inhibieron Syk en ensayos celulares y purificados, **P420-89** además demostró actividad contra quinasas JAK purificadas. Estos compuestos se analizaron con relación a la inhibición de la señalización de IL-4 a STAT-6 a través de JAK1/3 en células B, una ruta de señalización que no precisa Syk. Los compuestos específicos de Syk no suprimieron la señalización de IL4 a concentraciones tan altas como 2µM. Por otro lado, **P420-89** sí suprimió la señalización de IL4, con una CI50 de alrededor de 125nM (**Figura 11B**).

30 Esto muestra que la inhibición selectiva de Syk suprimió el flujo de Ca²⁺ inducido por BCR en células B con valores CI50 de alrededor de 100nM. Esto sugiere que al inhibir Syk, estos compuestos suprimen la ruta de señalización, bloqueando la respuesta celular.

35 La inhibición selectiva de Syk es suficiente para suprimir la señalización de BCR sin afectar Src (**Figuras 10, 11 y 13**) o JAK (**Figura 11B**). El ejemplo 87, suprimió la proliferación de líneas celulares NHL con potencia equivalente al inhibidor multi-quinasa, P420-89 (**Tabla, Figura 18C**). Además, el ejemplo 87 y P420-89 indujeron en igual medida la apoptosis en estas células (**Figura 12B**). Estos datos demuestran el papel de la señalización de Syk en la supervivencia de las líneas celulares NHL y demuestra que no se necesita la inhibición de otras quinasas aparte de la quinasa Syk para conseguir este efecto.

Ejemplo 621 Caspasa 3 y ensayos de proliferación: la inhibición de Syk interrumpe la proliferación y supervivencia de líneas celulares B de linfoma no-Hodgkin.

45 La inducción de apoptosis se midió con un kit para apoptosis de anticuerpo monoclonal activo caspasa 3 conjugado con PE (Becton Dickinson) siguiendo el protocolo proporcionado. Las células se suspendieron en un medio de crecimiento (0,5x10⁶ células/ml) y se trataron con las concentraciones indicadas de cada inhibidor de Syk o vehículo control durante 24, 48, ó 72 horas antes de realizar el análisis FACS. El ensayo MTT (bromuro de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, un tetrazol) (nombre de la empresa) se usó como medida de la viabilidad y crecimiento celular, siguiendo protocolos proporcionados por el fabricante. Las células se trataron con las concentraciones indicadas de cada inhibidor de Syk o vehículo control durante 72 horas.

50 Las células SUDHL-4 y SUDHL-6 se clasificaron previamente como "tipo-BCR" (Monti, Savage et al. Blood 105(5): 1851-61 (2005); Polo, Juszczynski et al. Proc Natl Acad Sci U S A 104(9): 3207-12 (2007) y sensibles a la inhibición de Syk por R406 (Chen, Monti et al. 2008). Las líneas celulares de Toledo y Karpas-422 que carecen de expresión BCR y

BLNK, respectivamente (Gabay, Ben-Bassat et al. Eur J Haematol 63(3): 180-91 (1999); Sprangers, Feldhahn et al. Oncogene 25(36): 5056-62 (2006), habiéndose adaptado por lo tanto a sobrevivir independientemente de las señales BCR, no fueron sensibles a R406 (Chen, Monti et al. 2008). Se analizó la proliferación de estas líneas celulares cuando fueron cultivadas en presencia o ausencia de varias concentraciones de cada inhibidor de Syk durante 72 horas. Como se muestra en la Tabla de la **Figura 18C**, cada compuesto suprimió la proliferación de las líneas celulares SUDHL dependientes de Syk con valores CI50 en rango μM se analizó. Las células Toledo precisaron concentraciones mucho mayores para que su proliferación se viera afectada. La supresión dual de quinasas Syk y JAK por P420-89 no pareció tener un efecto antiproliferativo superior en relación con la inhibición de Syk solamente.

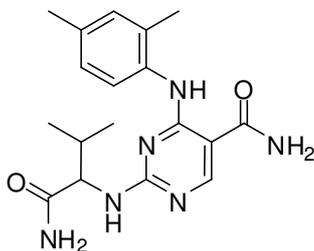
La inhibición selectiva de Syk fue suficiente para inducir la apoptosis en líneas celulares NHL "tipo BCR". Las células se incubaron con 1 ó $3\mu\text{M}$ del inhibidor específico de Syk ejemplo 87 durante 72 horas. Como se demostró en la **Figura 12A**, las células SUDHL-4 y -6 experimentaron apoptosis, mientras que las células Toledo y Karpas-422 no (**Figura 12A**). Al repetirse los experimentos, la inhibición específica de Syk por el Ejemplo de Referencia 596 y ejemplo 87 indujo apoptosis solamente en las líneas celulares SUDHL y Ramos. En comparación, P420-89, el cual inhibe quinasas Syk y JAK fuertemente, indujo la apoptosis en todas las líneas celulares de "tipo BCR", así como también en Karpas-422 y JLN-3, una línea celular de mieloma múltiple que carece de BCR, y expresión BLNK (Sprangers, Feldhahn et al. Oncogene 25(36): 5056-62 (2006). Las células Toledo permanecieron insensibles a los tres compuestos (**Figura 12B**). En un experimento por separado, las células SUDHL-6 y Toledo fueron igualmente sensibles a la inducción de apoptosis en un tratamiento de 72 horas con $1\mu\text{M}$ PMA. Estos datos demuestran la necesidad específica de Syk para la supervivencia de determinadas líneas celulares NHL.

Ejemplo 622 Estudios sobre xenoinjertos y análisis de concentración en tumor y plasma

La inhibición de Syk protege contra la formación de tumores en un modelo de xenoinjerto de ratón. Los ratones recibieron (empresa) y se aclimataron en el lugar durante por lo menos tres días antes de su utilización. Se inyectaron subcutáneamente células Ramos (3×10^6) en el área del flanco posterior de ratones conscientes con una aguja calibre 27 y el volumen de inyección fue de menos de 0,5ml. Después de la inyección, los ratones se distribuyeron aleatoriamente en grupos de tratamiento ($n = 15$) y se dosificaron dos veces al día por sonda nasogástrica con vehículo ó 10, 15 ó 20mg/kg del inhibidor de Syk ejemplo 87. Los pesos corporales se obtuvieron por lo menos una vez por semana y se tomaron medidas del calibre de los tumores dos veces a la semana a partir de que se formaron tumores palpables hasta el final del estudio. El volumen tumoral se determinó por medición con calibrador usando una fórmula [longitud máxima x anchura x altura x $\pi/6$]. Se continuó la dosificación dos veces al día del vehículo o del ejemplo 87 hasta que el vehículo o cualquiera de los grupos de tratamiento mostrasen tumores que excedieran 1,5 gramos de tamaño. Para el momento de la finalización (5 semanas después de la inoculación de Ramos) los ratones fueron anestesiados con una mezcla de ketamina. Se obtuvo una muestra de sangre para realizar un hemograma completo y determinar la concentración plasmática por medio de una punción cardíaca y se practicó eutanasia a los ratones por dislocación cervical. Se extirparon los tumores y se pesaron. Una mitad del tumor se congeló rápidamente en nitrógeno líquido para determinar la concentración del ejemplo 87 en el tejido tumoral y la otra mitad se colocó en 10% de formalina tamponada para su investigación histológica.

Se evaluó el efecto de la inhibición de Syk en la formación de tumores Ramos en un modelo de xenoinjerto en ratón. Los ratones recibieron dos dosis diarias de 10, 15 ó 20mg/kg ejemplo 87 o un vehículo de control a partir del día de la inoculación de la célula tumoral. Las mediciones con calibrador comenzaron en el momento en que se comenzaron a formar los tumores, aproximadamente tres semanas después de la inoculación del tumor, y se repitieron cada tres días hasta la finalización del estudio. El estudio finalizó cuando el peso del tumor comenzó a alcanzar aproximadamente 1,5mg, y en ese momento los tumores se extirparon y se pesaron. Se realizó un análisis farmacocinético sobre las muestras de tumor y de plasma.

Cada muestra de tumor se homogeneizó en 3ml de salino por gramo de tumor con el Kontes® Microtube Pellet Pestle® Rods and Motor (Kimble Chase, Vineland, NJ). Se analizaron muestras de plasma y de tumor para determinar la concentración del ejemplo 87 por medio de un espectrómetro de masas tándem - cromatografía líquida (LC/MS/MS). Brevemente, las muestras de plasma y de tumor se procesaron en una placa de filtro de 96 pocillos Captiva™ (0,2 μm , Varian, Inc., Palo Alto, CA). Se precipitaron alícuotas de plasma y muestras de tumor homogeneizadas con acetonitrilo que contenía 200 ng/mL de:



Compuesto A,

5 el estándar interno. La mezcla se sometió a agitación vorticial y se refrigeró a 4⁰C durante 30 minutos para permitir una precipitación completa de la proteína. La mezcla se filtró en una placa de recolección de 96 pocillos. El filtrado se inyectó en un Sciex API3000 LC/MS/MS equipado con una fuente de electrospray asistido por turbonebulización. El ejemplo 87 y el Compuesto A se separaron en una columna Phenomenex Luna 5 μ HILIC (4,6 x 100 mm, 5mm; Phenomenex, Torrance, CA). Una mezcla de gradiente de fase móvil con un 10% de fase A móvil (0,1% ácido fórmico en agua) y un 90% de fase B móvil (0,1% de ácido fórmico en 90% acetonitrilo, 10% agua) a 65% fase B móvil se programó durante 1,1 minutos seguido por un gradiente de fase B móvil de 65% a 90% durante 0,01 minutos. Las áreas del pico del producto ión m/z 394/360 de ejemplo 87 se midieron respecto de las del producto ión m/z 357/295 del Compuesto A (estándar interno) en modo ión positivo. El rango analítico fue de 2 a 5.000 ng/ml.

15 El análisis farmacocinético reveló que en un estado estacionario, las concentraciones de tumor del ejemplo 87 siguieron los perfiles de concentración-tiempo vistos con plasma en los grupos dosificados con 10, 15 y 20 mg/kg. Se observaron incrementos no lineales en C_{max}, AUC (0-8), y tumor C_{min} a medida que se aumentó la dosis, pero se notó un incremento proporcional a la dosis en el plasma C_{min}. Medio C_{max} y AUC (0-8) en plasma fue al menos dos veces mayor al de aquel presente en el tumor para todas las dosis examinadas, sin embargo, las concentraciones medias en el valle (C_{min}) fueron mayores en el tumor que en el plasma (**Tabla 14A**), lo que indica una acumulación de ejemplo 87 en el compartimiento tumoral.

Tabla 14A

Determinado a partir del plasma					
Régimen de dosificación	de	T _{max} (hr)	C _{min} (ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC (0-8) (ng*hr/mL)
10 mg/kg BID		1,50	17,6	179	738
15 mg/kg BID		1,50	26,6	343	1671
20 mg/kg BID		4,00	39,5	570	3191

20

Determinado a partir de tumor					
Régimen de dosificación	de	T _{max} (hr)	C _{min} (ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC (0-8) (ng*hr/mL)
10 mg/kg BID		8,00	24,5	55,2	353
15 mg/kg BID*		4,00	67,8	163	475
20 mg/kg BID		4,00	125	252	1453

Tabla 14B

Régimen de dosificación	Proporción tumor/plasma		
	Basado en AUC	Basado en C _{max}	Basado en C _{min}
10 mg/kg BID	0,478	0,308	1,39
15 mg/kg BID*	0,284	0,475	2,55
20 mg/kg BID	0,455	0,442	3,15

Nota: Las muestras de valle (0), 1,5, 4, y 8h se tomaron en el día de recogida siguiente a la dosis AM. La segunda dosis no se administró el día de la recogida; por lo tanto, los valores farmacocinéticos precedentes se determinaron luego de una única dosis AM en estado estacionario.

* Solamente una muestra de tumor estuvo disponible para el momento de las 8 horas y puede haber sido un valor atípico (concentraciones de tumor a las 8 horas - 608ng/ml); por lo tanto, los parámetros farmacocinéticos se determinaron entre las 0 y las 4 horas para el grupo de dosificación con 15mg/kg BID EJEMPLO 87. Consecuentemente, la proporción tumor/plasma AUC (0-8) y AUC para este grupo de dosificación puede haber sido subestimada.

5 La diferencia entre el C_{min} de plasma y el tumor se tornó más prominente a medida que la dosis se incrementó, como lo indica el incremento de las proporciones tumor/plasma determinadas a partir de C_{min} (**Tabla 14B**). Las proporciones tumor/plasma que se determinaron a partir de C_{max} y AUC (0-8) fueron similares en los diferentes grupos de dosificación. Las concentraciones de tumor se mantuvieron por encima de 60, 170, y 640nM a lo largo de todo el intervalo de dosificación en estado estacionario con relación al ejemplo 87 en 10, 15, y 20 mg/kg, respectivamente.

10 Los ratones que recibieron dosis de las tres concentraciones del ejemplo 87 fueron protegidos contra el crecimiento el tumor Ramos in vivo. Esto se hizo evidente en principio a partir de las mediciones con calibrador (datos no mostrados), que revelaron un rango reducido de crecimiento del tumor en presencia del inhibidor de Syk. Una vez finalizado el estudio, se practicó eutanasia a los ratones y los tumores se extirparon y se pesaron; la información consta en la **Figura 18A**. Consistentemente con las mediciones con calibrador, se logró una reducción estadísticamente significativa en el peso promedio del tumor en todos los grupos de dosificación, respecto de los de vehículo control. Estos datos revelan que concentraciones sub-micromolares del ejemplo 87 pueden prevenir la formación de tumores por una línea celular NHL agresiva en ratones.

15 Los ratones que recibieron una dosis de inhibidor de Syk no mostraron cantidades reducidas en ningún subgrupo de células blancas sanguíneas. De hecho, el único efecto que se observó fue un aumento en la cantidad de linfocitos en los ratones que fueron tratados con 15mg/kg del ejemplo 87, lo cual no sucedió con los ratones que recibieron dosis de 10 ó 20mg/kg (**Figura 18B**). El porcentaje relativo de cada subtipo celular analizado tampoco se vio afectado por el inhibidor de Syk (datos no mostrados). En promedio, los ratones tratados con vehículo control tuvieron un incremento del 9,45% en el peso corporal. Por otro lado, los ratones tratados con 10, 15, y 20mg/kg del ejemplo 87, tuvieron un incremento promedio de 0,27%, una reducción de 1,67%, y una reducción del 2,27% del peso corporal, respectivamente, en el transcurso del estudio. Sin embargo, no hubo relación entre el % de cambio en el peso corporal y el crecimiento del tumor (R² = 0,27). Estos datos sugieren que la inhibición del crecimiento del tumor realmente fue mediada por la supresión de la actividad de Syk.

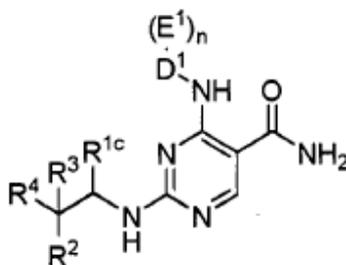
20 El inhibidor específico de Syk ejemplo 87 también se probó respecto de su actividad en un modelo de xenoinjerto en ratón con un tumor Ramos. En todas las concentraciones probadas, se observaron reducciones estadísticamente significativas en el crecimiento del tumor en ratones que recibían dosis BID del ejemplo 87. La concentración más baja con que se experimentó fue de 10mg/kg, con la que se alcanzaron concentraciones de tumor en un rango de 64 a 140nM en el transcurso de un día. La supresión *in vivo* del crecimiento tumoral con estas concentraciones es consistente con concentraciones de <125nM que lograron suprimir el flujo de Ca²⁺ inducido por BCR y señalización BCR distal a pERK Y204 (**Figuras 11 y 13**). La inhibición farmacológica selectiva de Syk resulta en efectos sobre la proliferación y supervivencia de las líneas celulares NHL. Estos datos sugieren que el direccionamiento selectivo de Syk puede de la misma forma tener beneficios clínicos en una variedad de trastornos proliferativos de células B.

5 Como se detalla en la presente memoria, Syk se ha implicado experimentalmente con el desarrollo, proliferación y supervivencia de las células B. Además, Syk está implicado como un oncogén. La expresión de Syk constitutivamente activo en células de médula ósea transferidas de forma adoptiva induce leucemia en ratones y la sobre actividad de Syk está asociada con una variedad de linfomas en los seres humanos. Debido al papel de Syk en la biología de las células B, su inhibición selectiva puede ser suficiente para proporcionar un beneficio clínico en trastornos proliferativos de las células B, mientras se reducen las toxicidades que pueden surgir debido a la supresión de otras quinasas que no constituyen el objetivo.

10 La presente invención proporciona varias realizaciones. Está claro que los ejemplos pueden alterarse para proporcionar otras realizaciones de esta invención. Por lo tanto, se apreciará que el alcance de esta invención está definido por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por las realizaciones específicas, que se han representado a modo de ejemplo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula (I):



(I)

o uno de sus tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables,

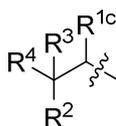
5 en donde:

D¹ es fenilo sustituido con heteroarilo;

10 cada E¹ está seleccionado de modo independiente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, alcoxi C₁₋₈, alquil C₁₋₈-tio, aminocarbonilo, alcoxi C₁₋₈-carbonil-alqueno C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈-carbonil C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, oxo, halo, ciano, haloalquilo C₁₋₈, haloalcoxi C₁₋₈, aminosulfonilo, heteroarilsulfonilo; amino, hidroxilo, arilalqueno C₁₋₈, fenilo, aminoalquilo C₁₋₈, aminocicloalquilo C₃₋₈, heterociclo, heteroarilo, acilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈ sulfonilo, acilamino y heterociclalqueno C₁₋₈;

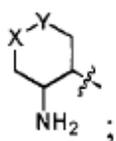
el subíndice n es 0, 1, 2, 3 ó 4;

el resto:



15 es bien:

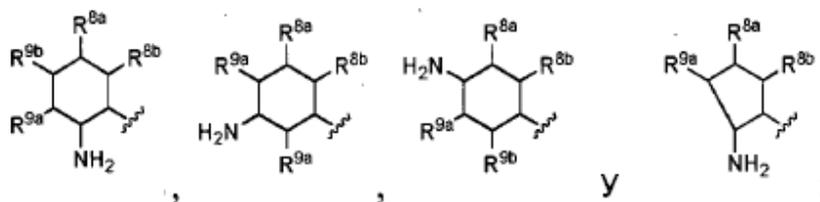
(a)



y

donde X e Y están seleccionados independientemente del grupo que consiste en: CH₂, NH, NCOOH₃ y S;

20 (b) seleccionado del grupo que consiste en:

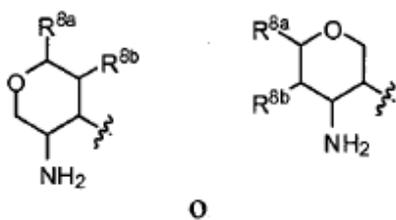


y

donde cada R^{8a} y R^{8b} es independientemente H, hidroxilo, halo o si están en carbonos adyacentes, pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y

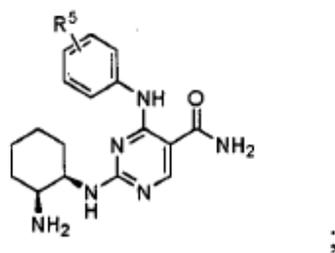
- 5 cada R^{9a} y R^{9b} es independientemente H, hidroxilo, halo o si están en carbonos adyacentes, pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula; o

(c)



- 10 donde cada R^{8a} y R^{8b} es independientemente H o pueden combinarse con los átomos a los que están unidos para formar un anillo de benceno fusionado; y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula; y "cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado mono o policíclico alifático, que puede formar un anillo con puente o un anillo espiro, y que puede tener uno o más enlaces dobles o triples.

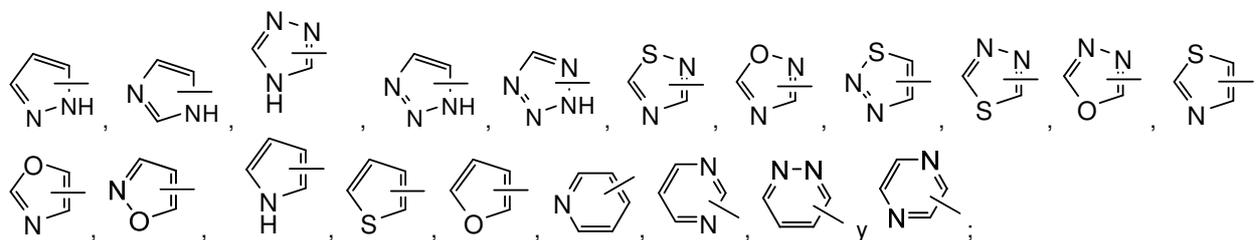
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:



15

donde R⁵ se selecciona del grupo que consiste en:

(a)

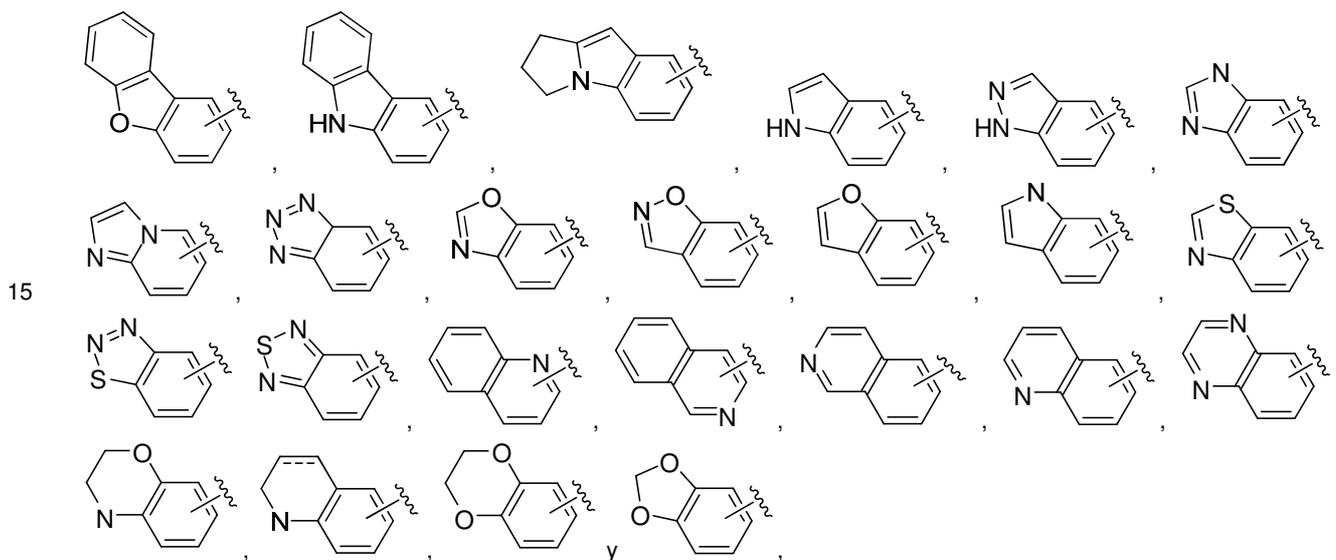


cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en:

- 5 alquilo C₁₋₈, amino, hidroxilo, oxo, halo, alcoxi C₁₋₈, hidroxialquilo C₁₋₈, aminoalquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-carbonilo, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, aminocicloalquilo C₁₋₈, aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, arilo, arilalcoxi C₁₋₈-carbonilamino, alquil C₁₋₈-sulfonilo, aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo y alquil C₁₋₈-heterociclilo;

o

(b)



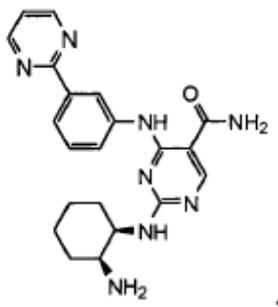
- 15 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes R^{7d} seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en:
- 20 alquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-carbonilo, aminocicloalquilo C₁₋₈, aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-carbonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-carbonilo, aminocarbonilo, amino, alcoxi C₁₋₈-carbonilamino, arilo, arilalcoxi C₁₋₈-carbonilamino, hidroxilo, alcoxi C₁₋₈, alquil C₁₋₈-sulfonilo, aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, alquilen C₁₋₈-aminoalquilen C₁₋₈-sulfonilo, alcoxi C₁₋₈-alquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialquilen C₁₋₈-sulfonilo, hidroxialcoxi C₁₋₈-sulfonilo, aminosulfonilo, oxo, halo, fenilo y alquil C₁₋₈-heterociclilo; y la línea ondulada indica el punto de unión con el resto de la molécula

- 25 **3.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en: 4-(4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(4-(1,2,3-tiadiazol-4-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-4-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(piridin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-

- il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-(aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-carbamoil-1 H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-ciano-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-ciano-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-ciano-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-ciano-5-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(6-metoxipiridin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metoxipiridin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-fluoropiridin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(2H-tetrazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-5-(2H-tetrazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(1H-benzo[d]imidazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(1H-indazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida (242.A) y 4-(3-(2H-indazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida (242.B); 4-(3-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida (243.A) y 4-(3-(2H-benzo[d][1,2,3]triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida (243.B); 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-6-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1-metil-1 H-pirazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(4-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metoxi-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metoxi-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-metil-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-pirazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-6-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(imidazo[1,2-a]piridin-6-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(6-(dimetilamino)piridina-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(isoxazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(4-(4H-1,2,4-triazol-4-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(4H-1,2,4-triazol-4-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(isoxazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(5-metilisoxazol-3-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3-dihidrobencofuran-5-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-4-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2,3-dihidrobencob[1,4]dioxin-6-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-(2,3-dihidrobencob[1,4]dioxin-6-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-7-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-4-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-8-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(quinolin-5-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)-5-(trifluorometil)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-4-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-metil-4-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)-4-(trifluorometil)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)-4-trifluorometil)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-fluoro-4-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((3S,4S)-4-aminotetrahidro-2H-piran-3-ilamino)pirimidina-5-carboxamida; 4-(3-(1H-pirazol-1-il)fenilamino)-

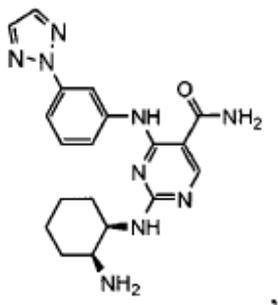
2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((3R,4R)-3-aminotetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-bromo-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-bromo-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(4-cloro-3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida y 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-cloro-5-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:



10 2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)-4-(3-(pirimidin-2-il)fenilamino)pirimidina-5-carboxamida; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:



4-(3-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenilamino)-2-((1R,2S)-2-aminociclohexilamino)pirimidina-5-carboxamida; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 6. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una composición de acuerdo con la reivindicación 6 para uso en un método para inhibir la quinasa syk o JAK o una ruta de transducción de la señal mediada al menos en parte por la actividad syk quinasa.

20 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una composición de acuerdo con la reivindicación 6 para uso en un método para tratar una condición o trastorno mediado al menos en parte por la actividad syk quinasa en un sujeto.

25 9. Un compuesto o una composición de acuerdo con la reivindicación 8, donde la condición o trastorno se selecciona del grupo que consiste en enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria y enfermedad autoinmune y trastorno proliferativo celular.

10. Un compuesto o una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde dicha enfermedad cardiovascular se selecciona del grupo que consiste en restenosis, trombosis, púrpura trombocitopénica inmune,

- trombocitopenia inducida por heparina, cardiomiopatía dilatada, enfermedad de células falciformes, aterosclerosis, infarto de miocardio, inflamación vascular, angina inestable y síndromes coronarios agudos; dicha enfermedad inflamatoria es seleccionada del grupo que consiste en alergia, asma, artritis reumatoide, enfermedades mediadas por células B como el linfoma no-Hodgkin, síndrome anti-fosfolípido, lupus, soriasis, esclerosis múltiple y enfermedad renal en fase terminal;
- 5 dicha enfermedad cardiovascular es seleccionada del grupo que consiste en trombosis, púrpura trombocitopénica inmune y trombocitopenia inducida por heparina; dicha enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide o linfoma no-Hodgkin; dicha enfermedad de células falciformes es seleccionada del grupo que consiste en anemia de células falciformes, enfermedad de hemoglobina C falciforme, talasemia beta-plus falciforme y talasemia beta-cero falciforme;
- 10 dicha enfermedad relacionada con el sistema inmunológico es seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad mediada por células T, una enfermedad autoinmune, rechazo de huésped vs. injerto, rechazo de injerto vs. huésped, una reacción hipersensible de Tipo IV y rechazo alógrafico; dicha enfermedad autoinmune es seleccionada del grupo que consiste en anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica inmune, esclerosis múltiple, síndrome de Sjorgen, diabetes, artritis reumatoide, lupus y soriasis; en donde dicho trastorno proliferativo de células es leucemia, linfoma, trastornos mieloproliferativos, malignidades hematológicas y mielofibrosis idiopática crónica; y dicho trastorno es leucemia mieloide
- 15 aguda, leucemia linfocítica crónica o linfoma no-Hodgkin.
- 11.** Un compuesto o una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde dicha condición o trastorno es asma.
- 12.** Un compuesto o una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde dicha condición o trastorno es Linfoma no-Hodgkin.
- 20 **13.** Un compuesto o una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde dicha condición o trastorno es artritis reumatoide.
- 14.** Un compuesto o una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 10 para uso en combinación con otro agente útil para tratar dicha condición o trastorno.
- 15.** Un kit que comprende una composición de la reivindicación 6, envasado e instrucciones de uso.

FIG. 1.

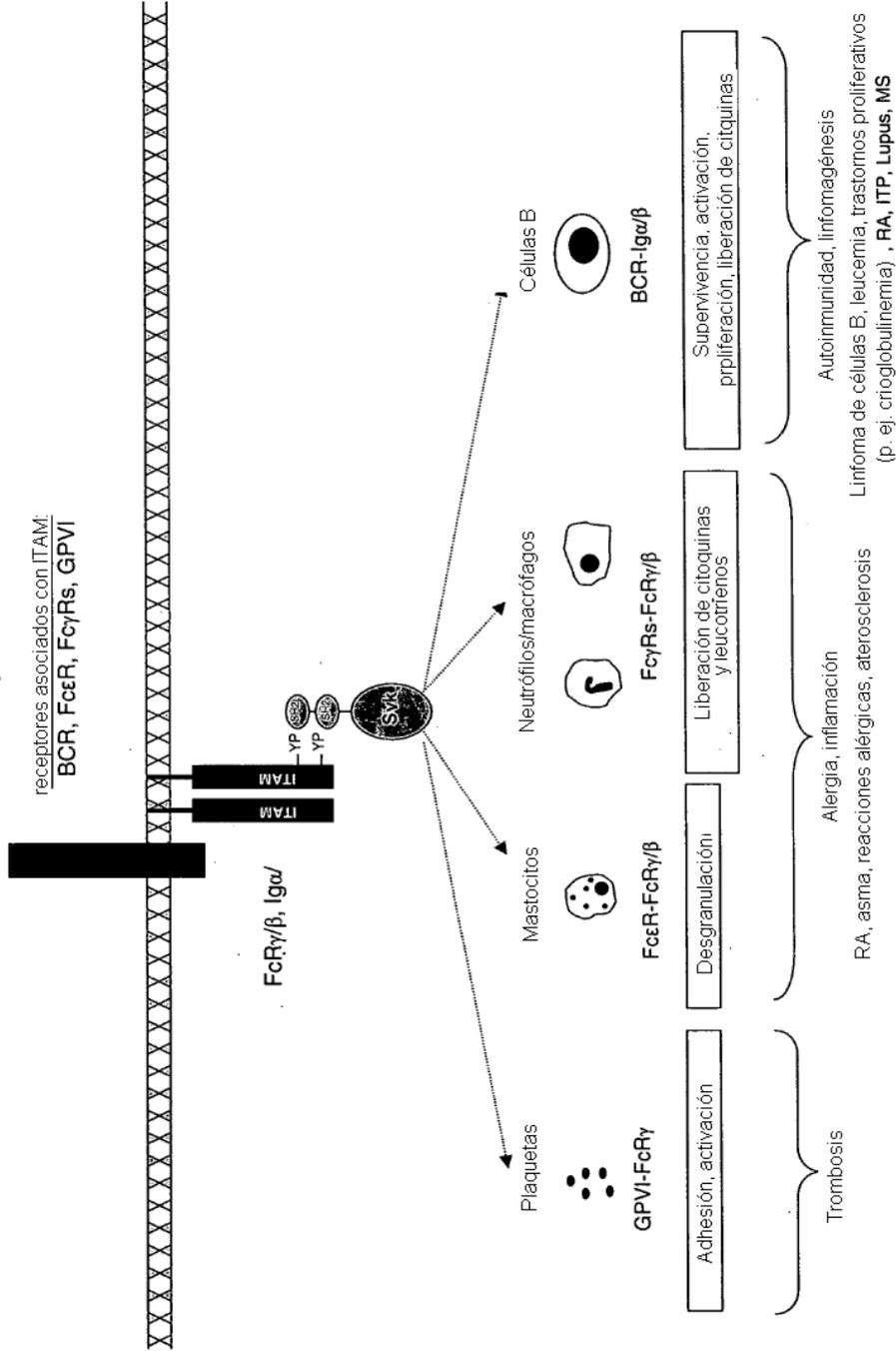
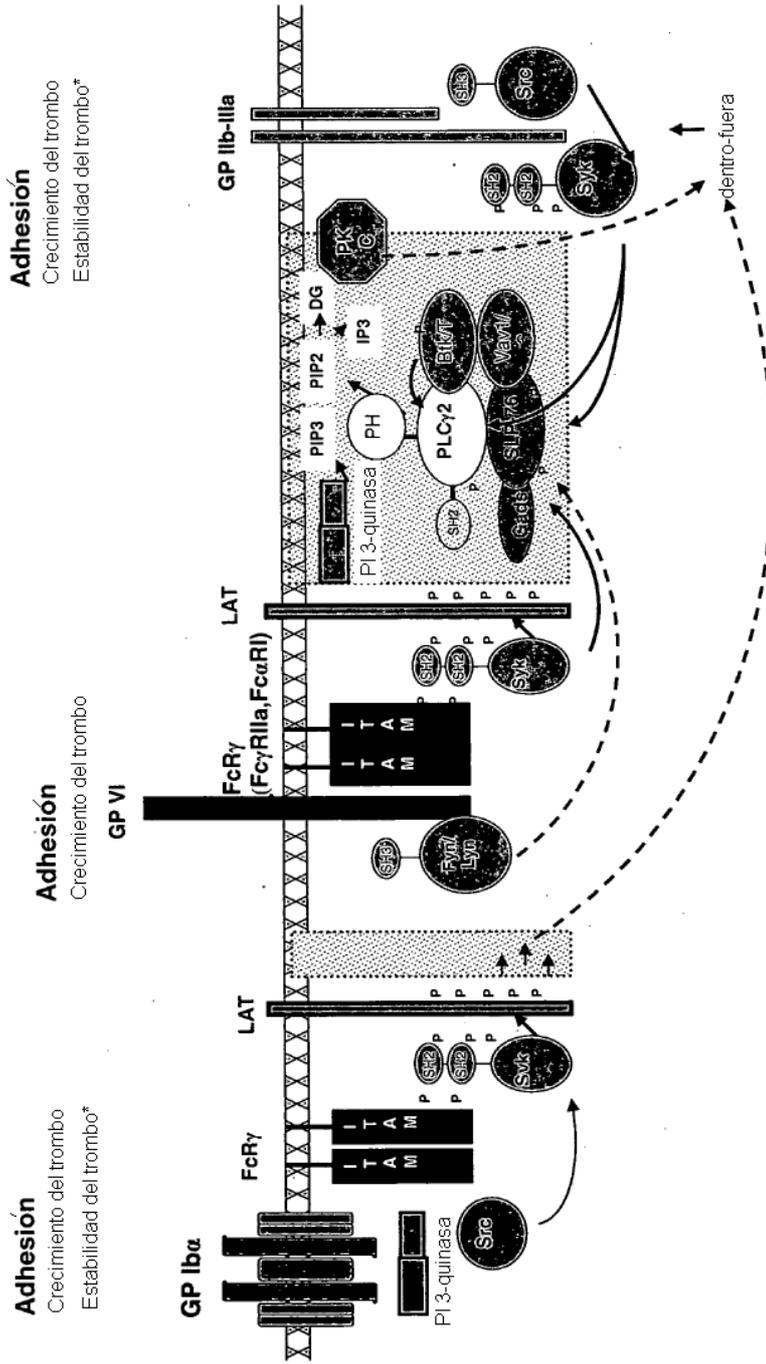


FIG. 2



*Syk corriente abajo de compromiso de P2Y₁₂ también por ADP

FIG. 3

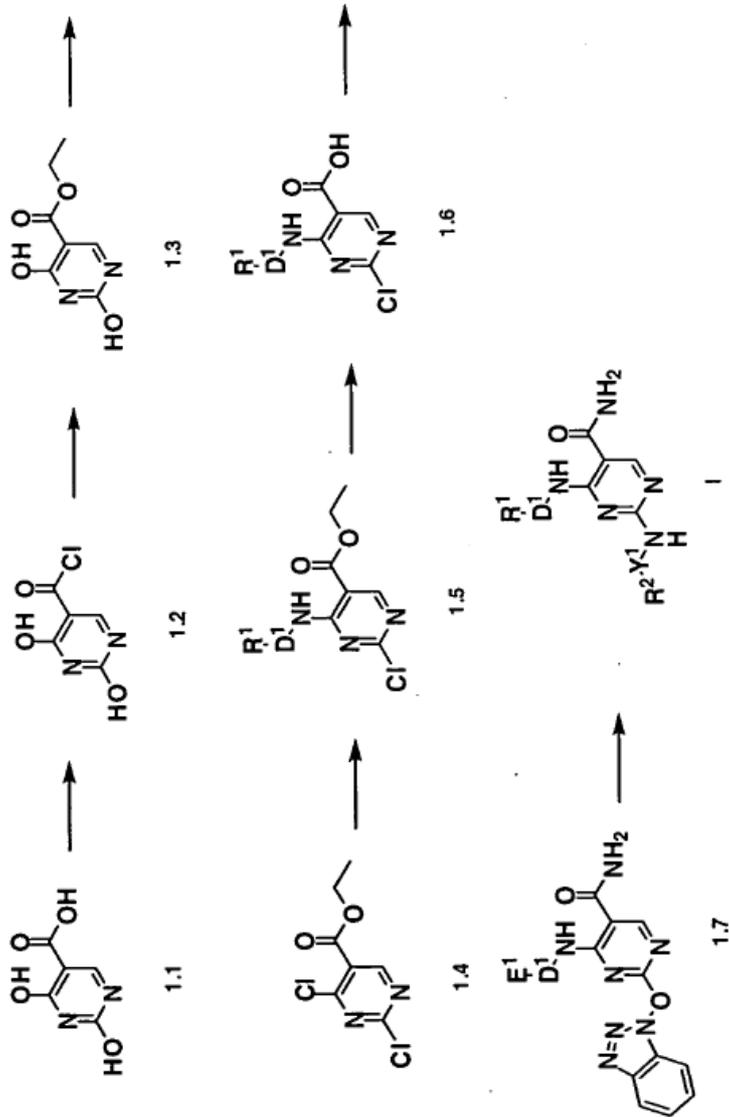
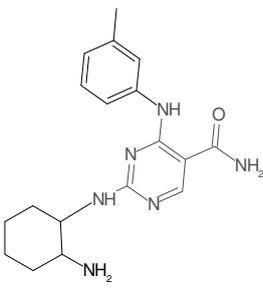
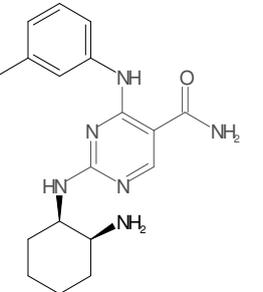
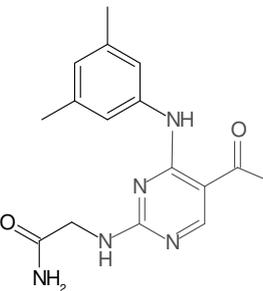
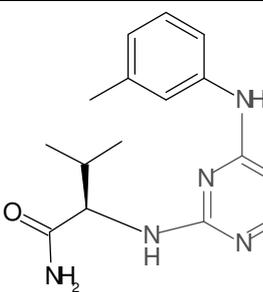
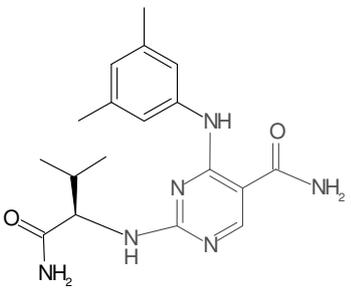
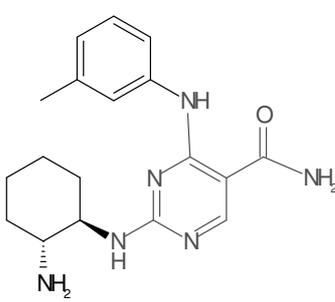
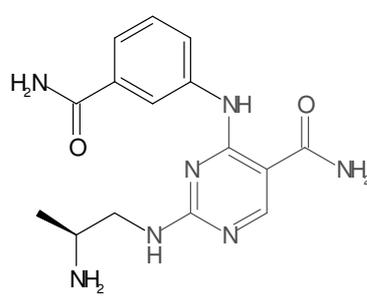
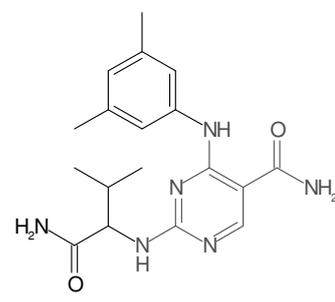
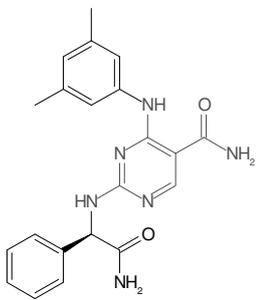
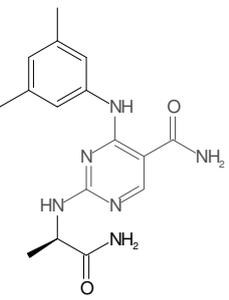
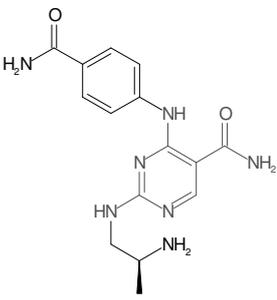
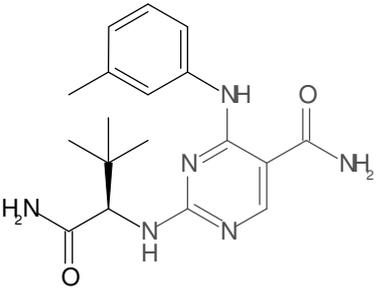
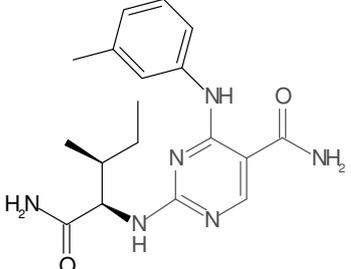
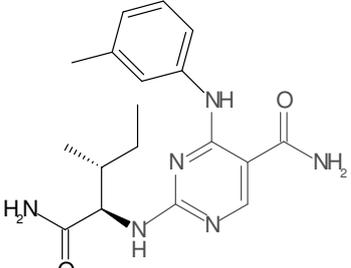
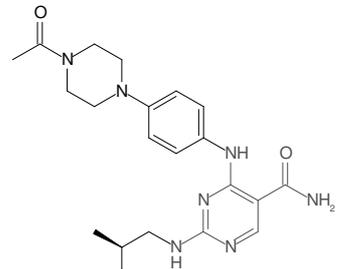
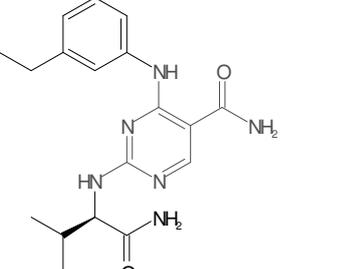


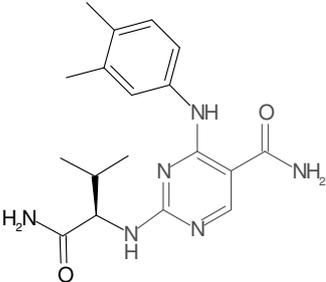
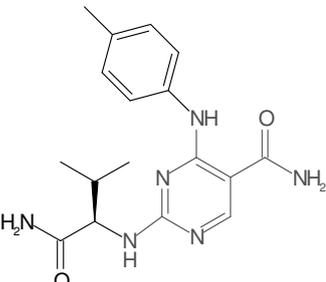
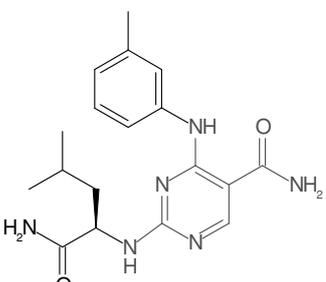
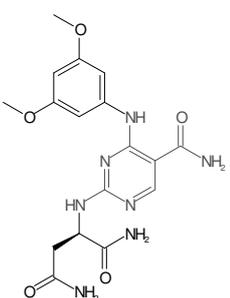
FIG.4A

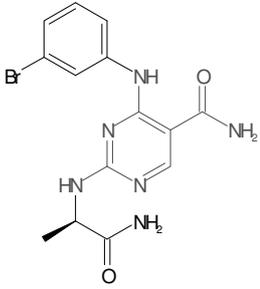
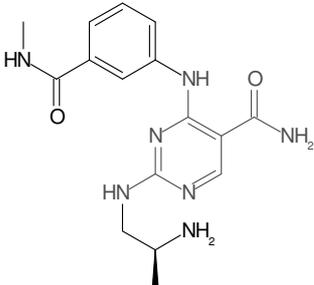
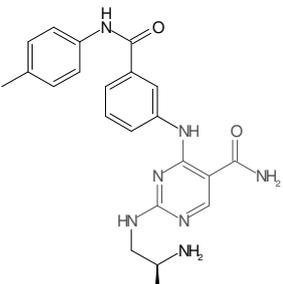
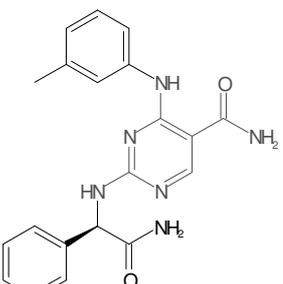
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
700		340,43	MS: consistente con la estructura		++++
701		340,43	341		++++
702		314,35			++
703		342,4			++

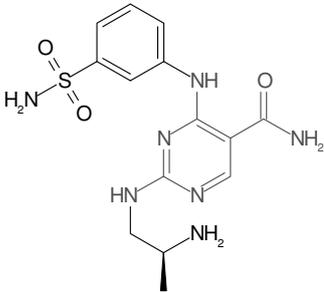
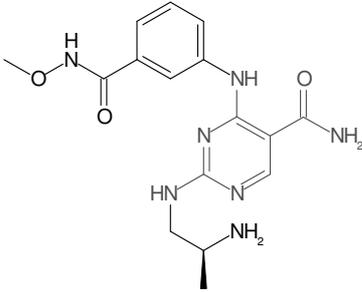
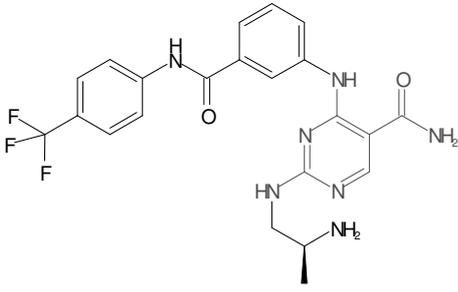
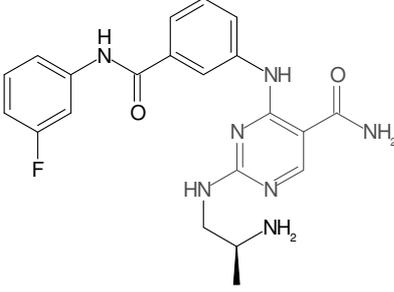
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
704		356,43	ES(+) MS [M+H]=357 MS+ 357 Turbopulverización MS [M+1]=357	202,9, 244,9, 295,2	+++
705		340,43			++
706		329,36	Turbopulverización MS [M+1]=330		++
707		356,43	ES(+) MS [M+H]=357		++

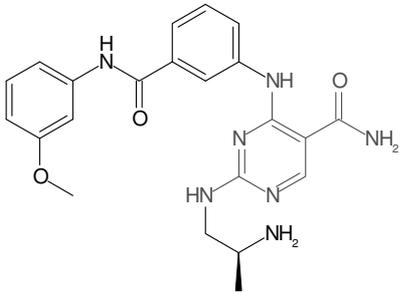
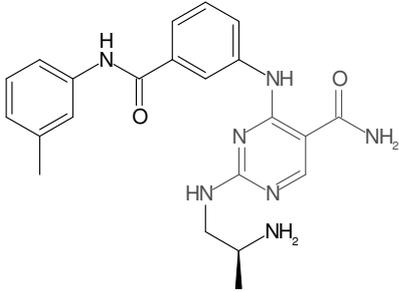
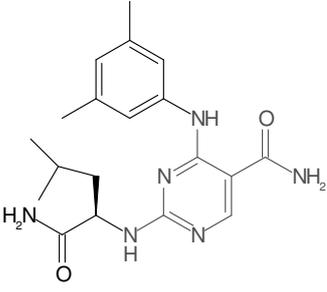
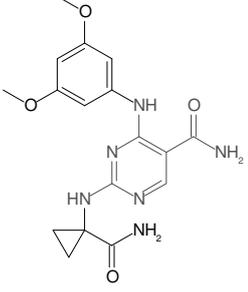
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
708		390,45	Turbopulverización espec. de masa [M+1]=390	202,2, 244,3, 292,0	+++
709		328,38	ES (+) MS [M+1]=329 Turbopulverización MS [M+1]=329		+++
710		329,36	ES(+) MS [M+1]=330		+
711		356,43	M+1= 357		+

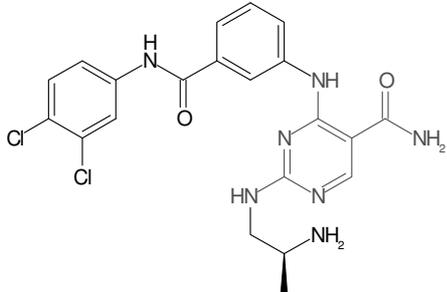
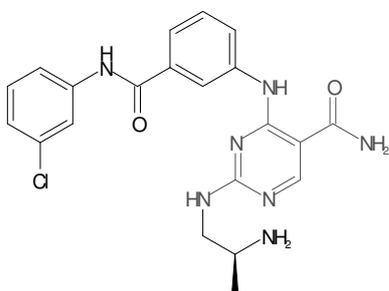
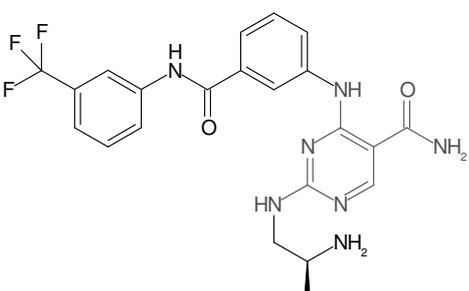
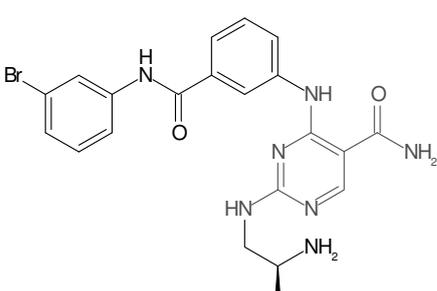
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
712		356,43	M+1=357		+
713		356,43	M+1=357		+
714		412,5	413,3		+
715		356,43	Turbopulverización espec. de masa [M+1]=356	243,7, 244,0	+

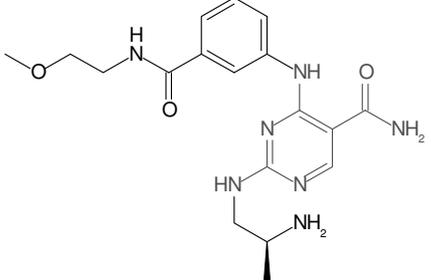
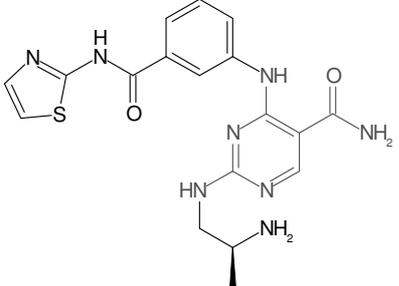
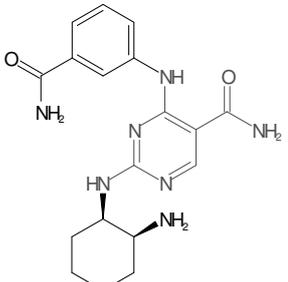
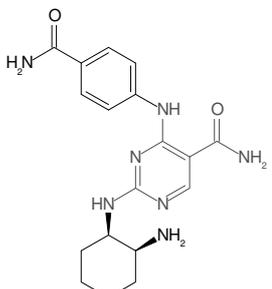
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
716		356,43	M+1 = 357		+
717		342,4	M+1 = 343		+
718		356,43	m+1 = 357		+++
719		403,4	Turbopul- verización MS [M+1]=404	205,9, 235,1, 292,8	+

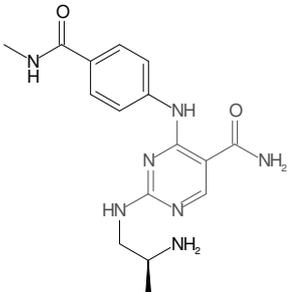
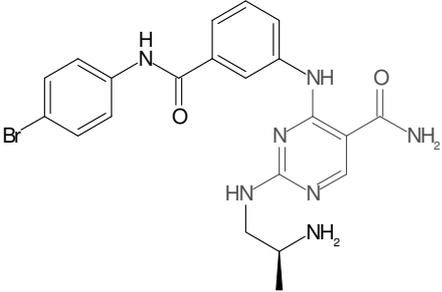
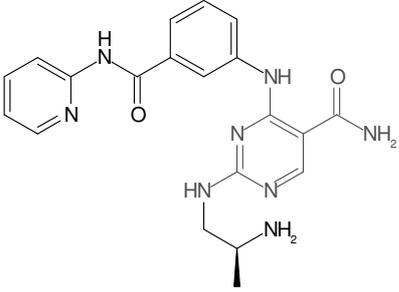
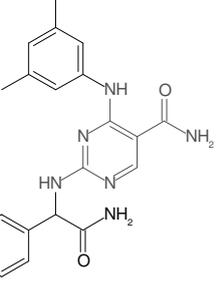
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
720		379,22	Turbopulverización MS [M]=379, patrones de bromo	241,8, 288,5+	
721		343,39	Turbopulverización MS [M+1]=344	239,9, 284,8+	
722		419,49	Turbopulverización MS [M+1]=420	205,3, 243,1, 276,8+	
723		376,42	Turbopulverización MS [M+1]=377	210,7, 240,0, 292,8+	

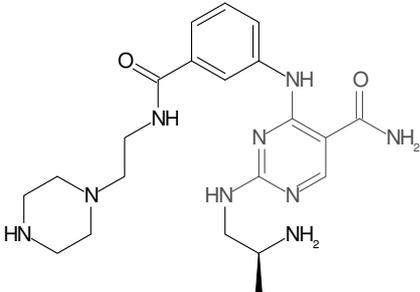
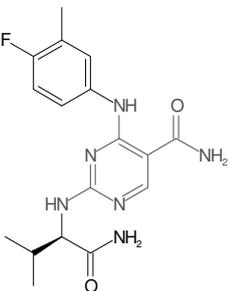
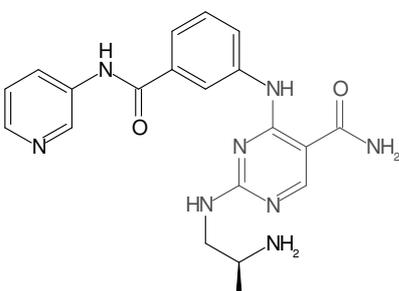
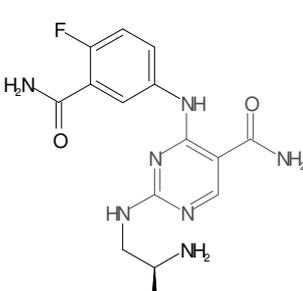
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
724		365,42	Turbopul- verización MS [M+1]=366	202,9, 239,4, 283,5	+
725		359,39	Turbopul- verización MS [M+1]=360	202,9, 246,1	+
726		473,46	Turbopul- verización MS [M+1]=474	205,9, 244,9, 276,8	+
727		423,45	Turbopul- verización MS [M+1]=424	204,1, 249,9,	+++

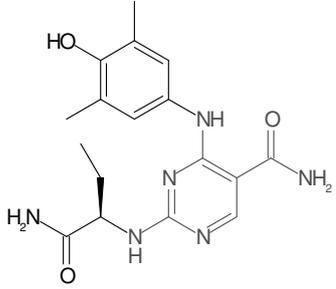
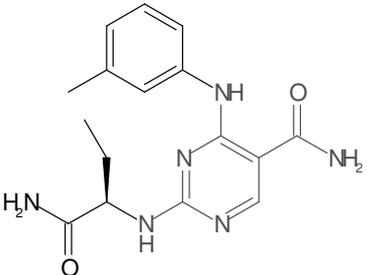
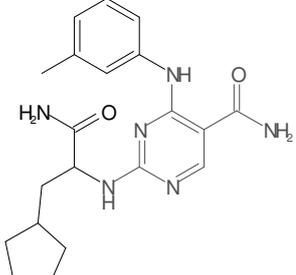
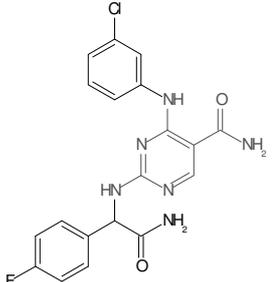
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
728		435,49	Turbopulverización MS [M+1]=436	200,4, 241,8, 282,9	+
729		419,49	Turbopulverización MS [M+1]=420	201,0, 241,2, 280,5	+
730		370,46	m+1= 371		+++
731		372,39	ES (+) MS [M+H]=373 Turbopulverización MS [M+1]=373		+++

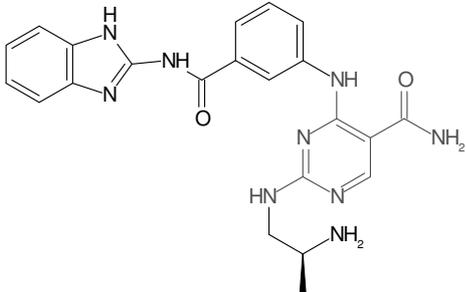
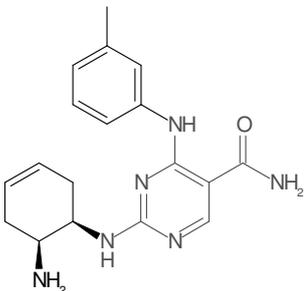
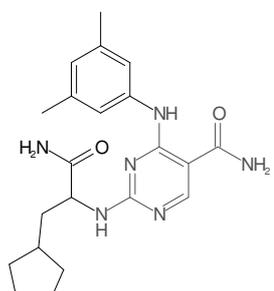
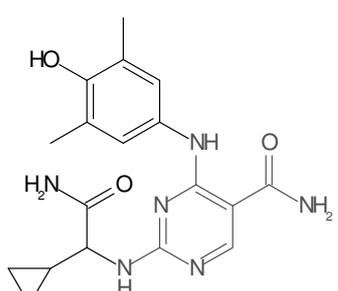
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
732		474,35	Turbopulverización MS [M+1]=473,9	201,0, 243,1, 279,2	+
733		439,91	Turbopulverización MS [M+1]=441	233,9, 248,6, 300,2	+
734		473,46	Turbopulverización MS [M+1]=474	201,6, 243,1	+
735		484,36	Turbopulverización MS [M]=484, Br		+

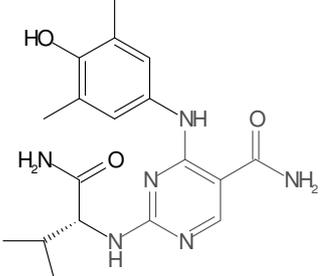
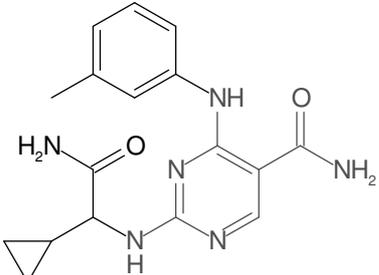
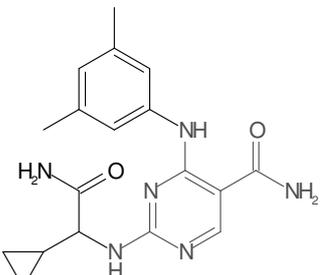
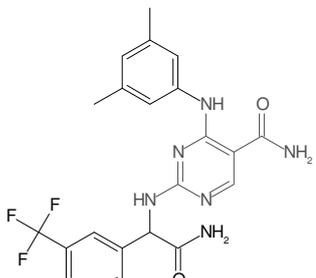
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
736		387,44	ES (+) MS [M+1]=388		+
737		412,48	ES (+) MS [M+1]=413 ES(+) MS [M+1]=413		+++
738		369,43	ES(+) MS [M+1]=370	202,5, 241,4	+++
739		369,43	ES(+) MS [M+1]=670	213,2, 246,2, 303,0	+++

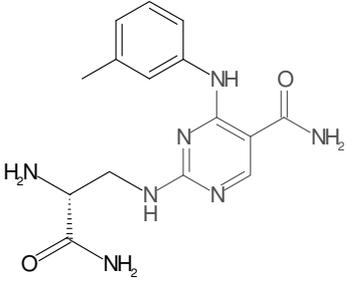
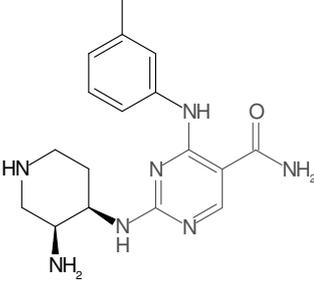
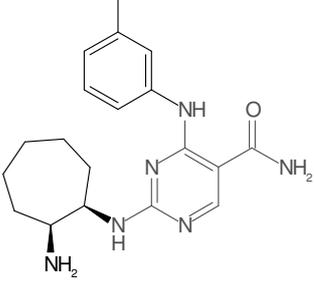
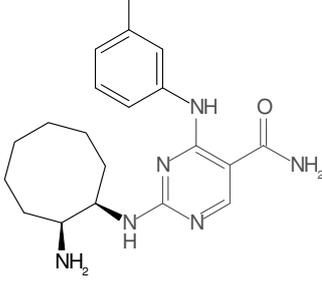
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
740		343,39	ES(+) MS [M+1]=344	212,0, 239,1, 301,8	+
741		484,36	Turbopul- verización MS [M+1]=484 (1 bromo)	202,2, 244,9, 276,8	+
742		406,45	Turbopul- verización MS [M+1]=407	244,9, 300,2	+
743		408,44	Turbopul- verización MS [M+1]=409	201,6, 241,8, 294,0	+

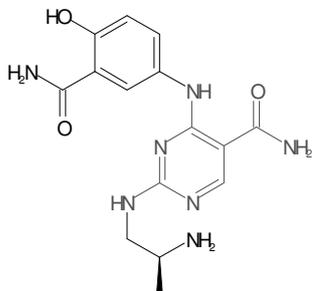
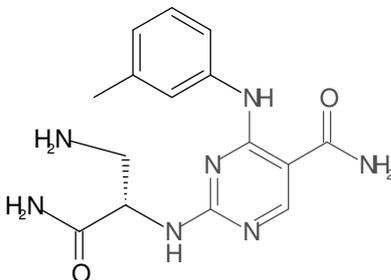
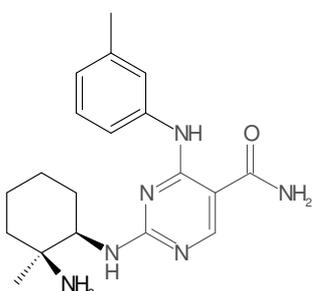
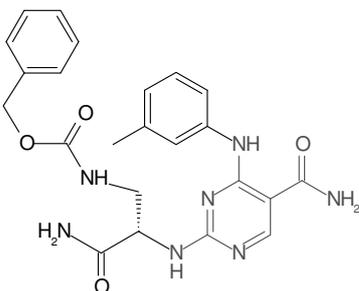
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
744		441,54	Turbopulverización MS [M+1]=442	239,4, 284,1+	
745		360,39	Turbopulverización MS [M+1]=361	243,2	+
746		406,45	Turbopulverización MS [M+1]=407		+
747		347,35	Turbopulverización MS [M+1]=348	237,6, 282,9+	

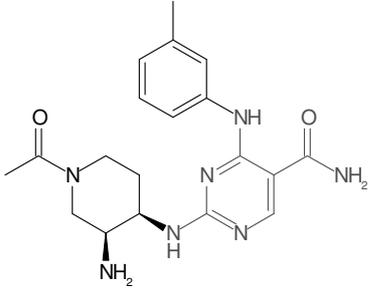
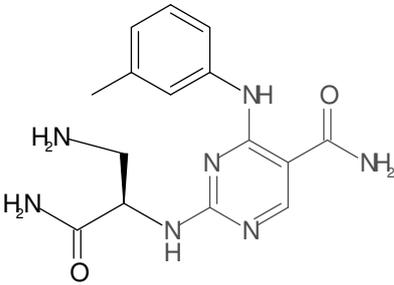
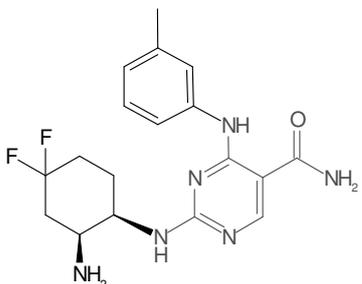
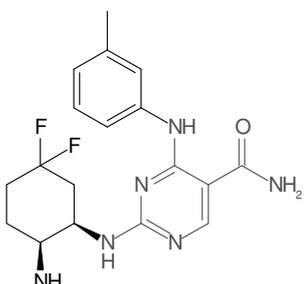
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
748		358,4	M+1 = 359		+++
749		328,38	M+1 = 383		+
750		382,47	M+1 = 383		+
751		414,83	M + H = 414,9	200,4, 244,3	+

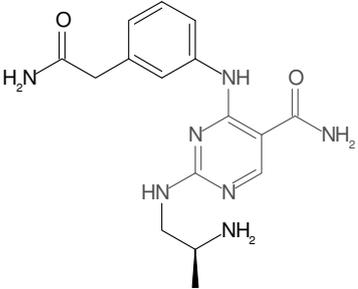
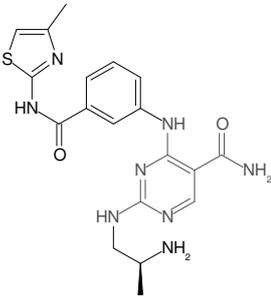
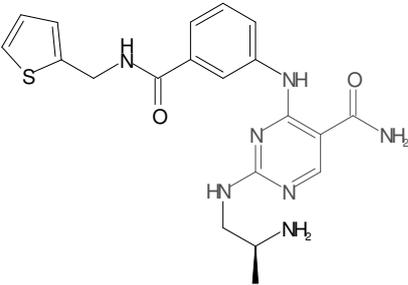
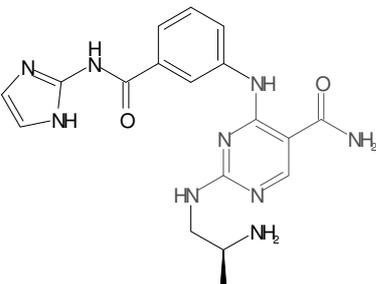
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
752		445,49	M + H = 446		+
753		338,42	339,2 (M+1)		++++
754		396,5	M+1 = 397		+
755		370,41	M+1 = 371		+++

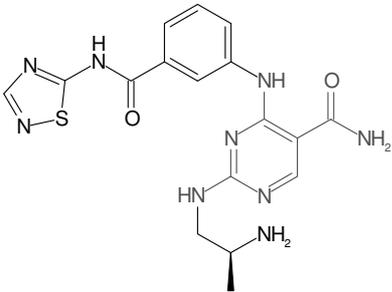
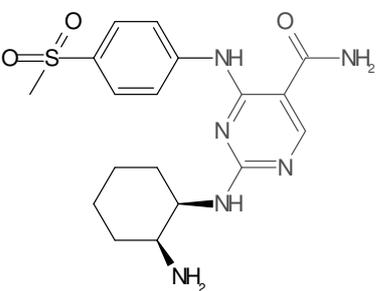
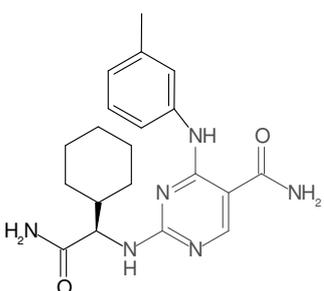
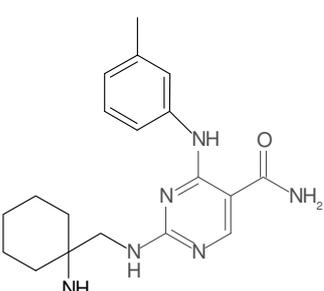
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
756		372,43	M+1 = 373		+
757		340,39	M+1 = 341		+
758		354,41	M+1 = 355		+
759		458,44	Turbopul- verización MS [M+1]=459	202,5, 241,8, 294,0	+

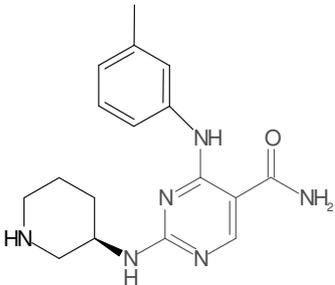
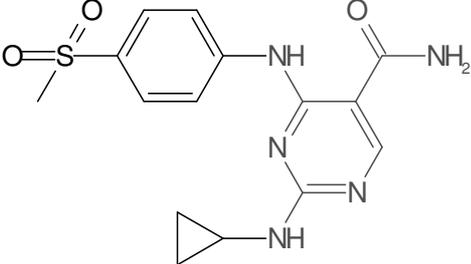
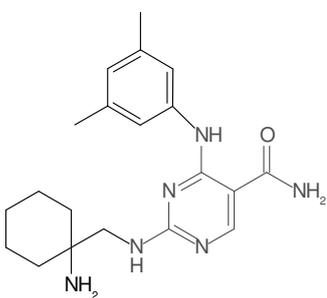
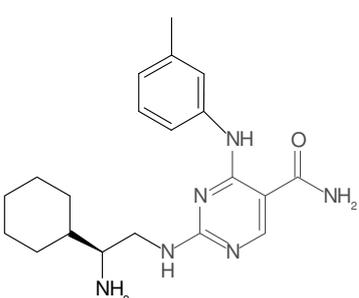
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
760		329,36	MS: 330,2 (M + H)		+
761		341,42	342,1 (M+1) 342,2 (M+1)		+++
762		354,46	355,2 (M+1)		++++
763		368,49	369,2 (M+1)		++++

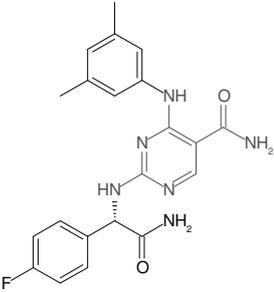
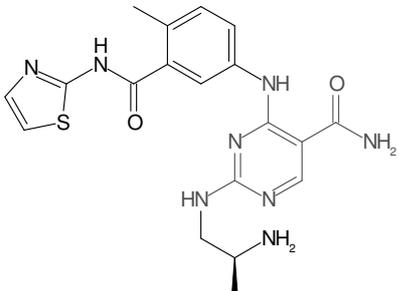
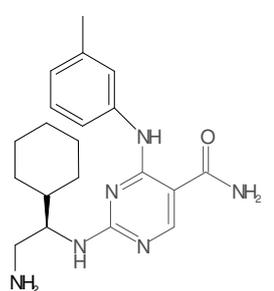
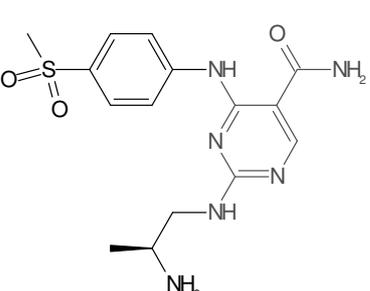
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
764		345,36	Turbopulverización MS [M+1]=346	204,7, 238,8, 295,8	+
765		329,36	MS: 330,1 (M + H)		+
766		354,46	355,2 (M+1)		+++
767		463,5	MS: 464,1 (M + H)		+

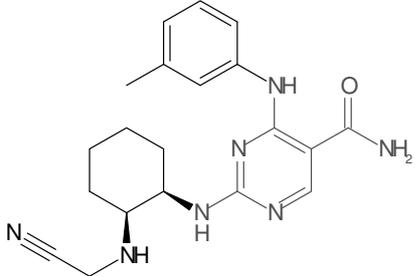
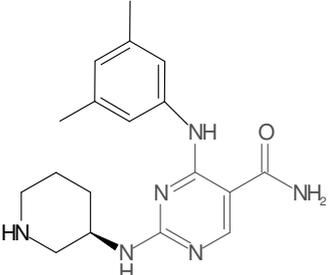
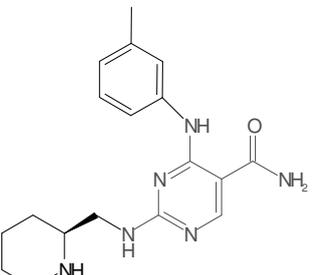
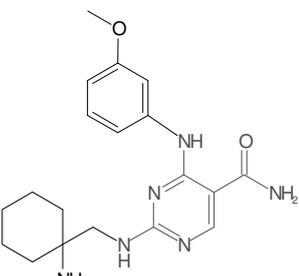
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
768		383,46	384,2 (M+1)		+++
769		329,36	MS: 330,1 (M + H)		+
770		376,41	377,1 (M+1)		+
771		376,41	377,1 (M+1)		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
772		343,39	Turbopulverización MS [M+1]=344	237,6, 257,7, 273,6, 303,9	+
773		426,5	Turbopulverización MS [M+1]=427		+
774		425,52	Turbopulverización MS [M+1]=426	238,8, 285,4	+
775		395,43	Turbopulverización MS [M+1]=396	245,5	+

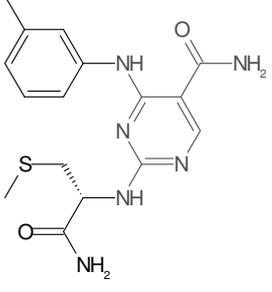
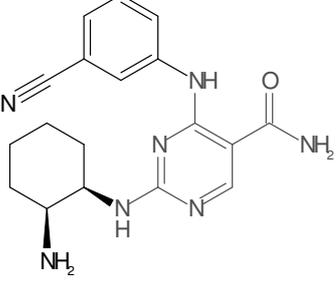
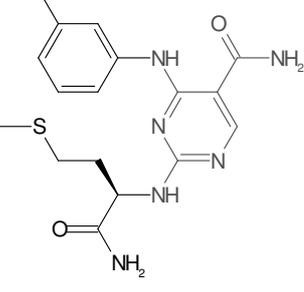
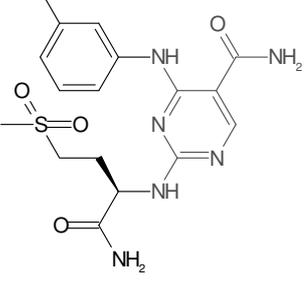
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
776		413,46	Turbopulverización MS [M+1]=414		+
777		404,49	405,1		+
778		382,47	383,2 (M+1)		+
779		354,46	355,2 (M+1)		+

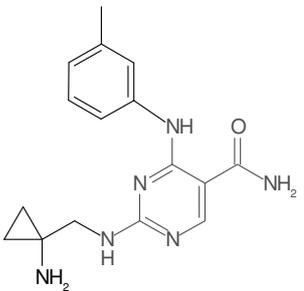
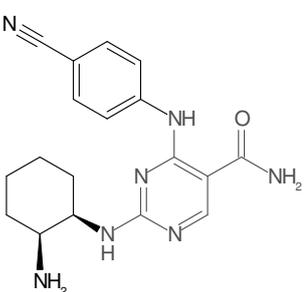
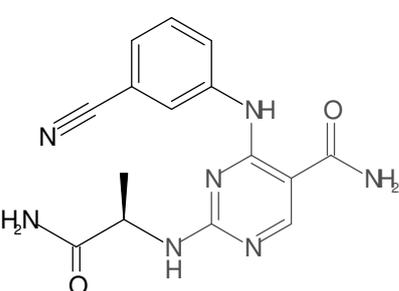
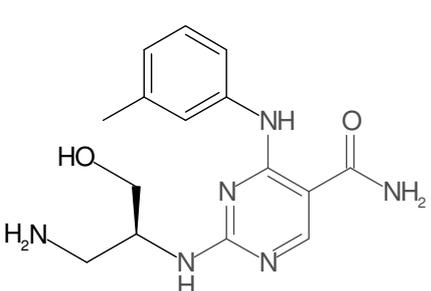
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
780		326,4	327,2 (M+1)		+
781		347,4	348,2		+
782		368,49	369,2 (M+1)		+
783		368,49	369,2 (M+1)		+++

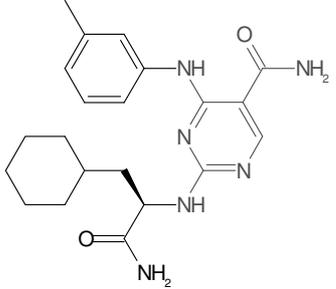
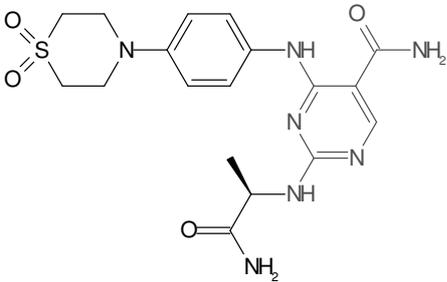
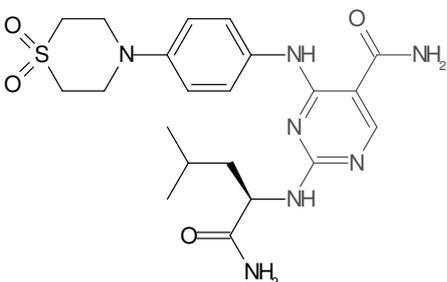
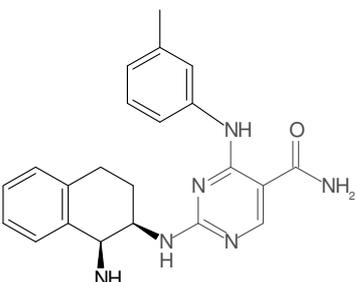
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
784		408,44	Turbopulverización MS [M+1]=409		+
785		426,5	Turbopulverización MS [M+1]=427	241,8, 284,8+	
786		368,49	369,2 (M+1)		+++
787		364,43	365,2		+

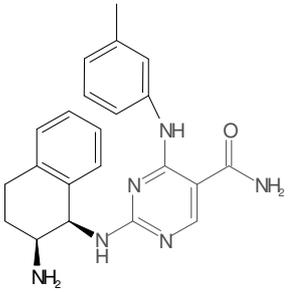
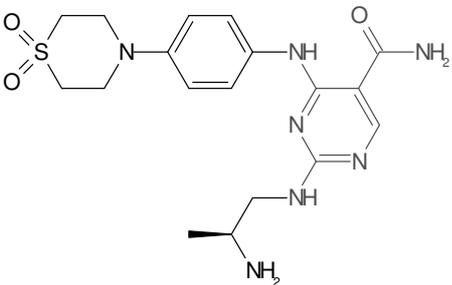
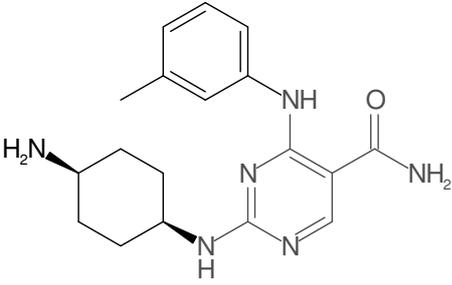
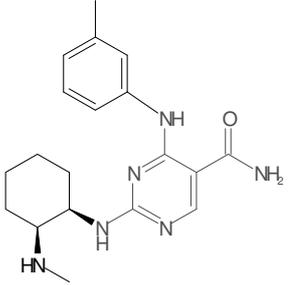
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
788		379,47	MS: 380,2 (M+H)		+
789		340,43	341,2 (M+1)		+
790		340,43	341,2 (M+1)		+
791		370,46	371,2 (M+1)		+

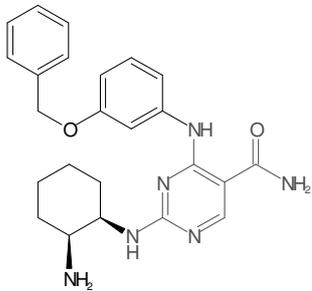
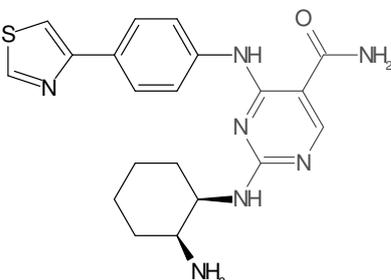
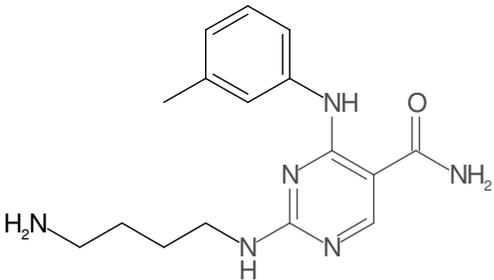
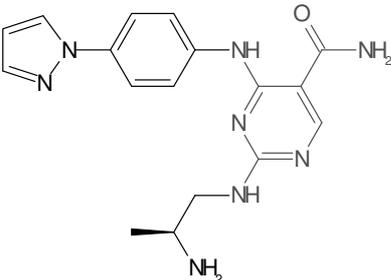
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
792		430,47	Turbopulverización MS [M+1]=431	201,0, 239,4, 292,1	+
793		409,45	Turbopulverización MS [M+1]=410	239,4, 284,1	+
794		459,96	Turbopulverización MS [M+1]=460	202,2, 238,8	+
795		340,43	ES(+) MS [M+1]=431	240,5, 292,7	+

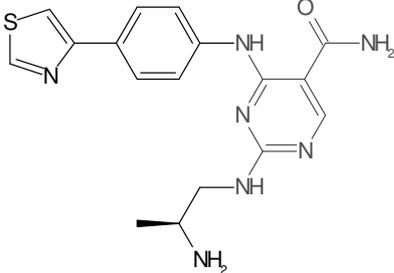
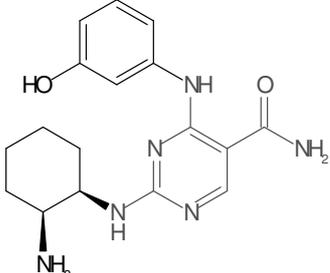
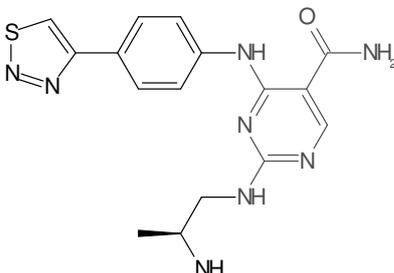
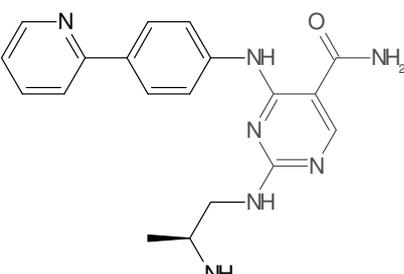
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
796		360,44	361,1		+
797		351,41	MS: 352,2 (M + H)		+++
798		374,47	375,1		+
799		406,47	407,1		+

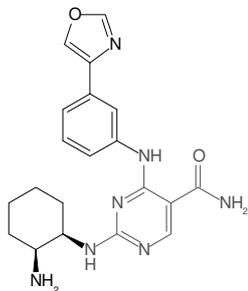
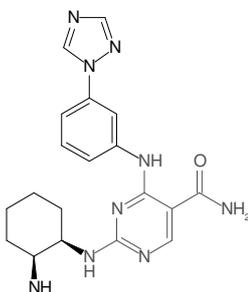
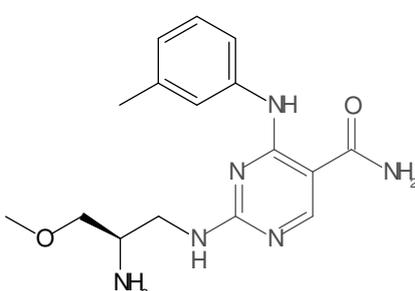
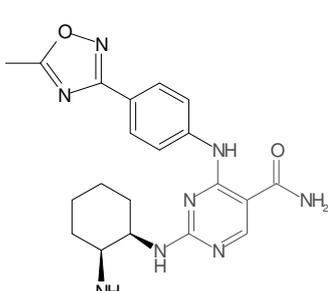
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
800		312,38	313,1 (M+1) 313,23 (M+1)		+++
801		351,41	MS: 352,2 (M + H) MS: 352,5 (M + H)		+++
802		325,33	MS: 326,1 (M + H)		+
803		316,37	MS: 317,1 (M + H)		+

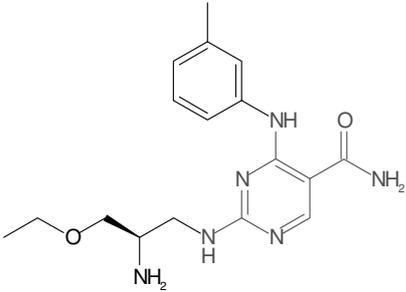
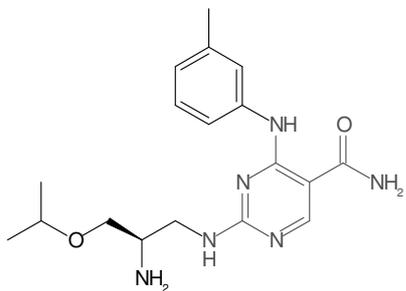
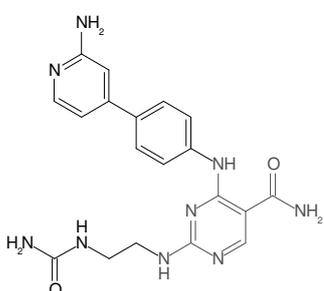
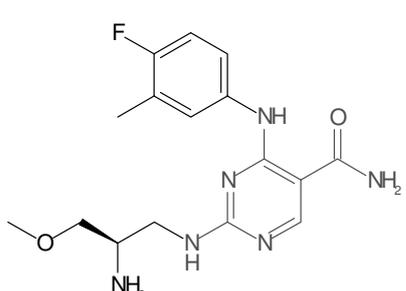
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
804		396,5	397,2		+
805		433,49	434,1		+
806		475,57	476,1		+++
807		388,48	389,2 (M+1)		+++

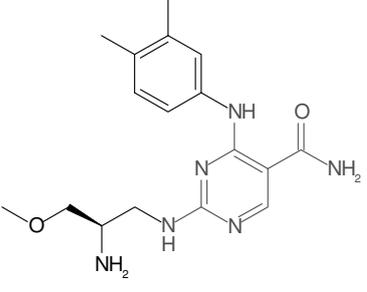
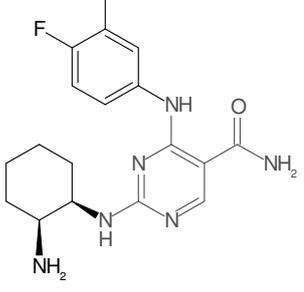
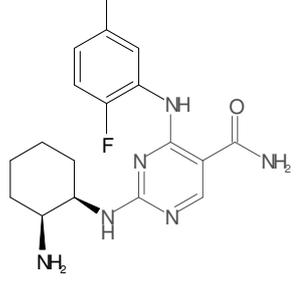
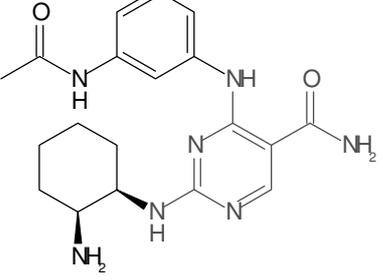
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
808		388,48	389,2 (M+1)		+++
809		419,51	420,2		+
810		340,43	341,2		+
811		354,46	355,2 (M+1)		+

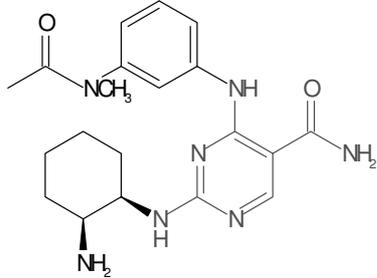
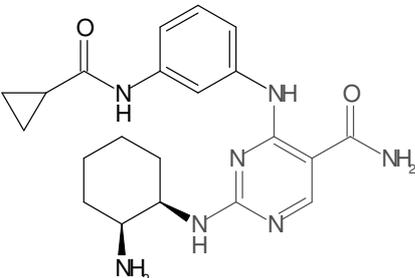
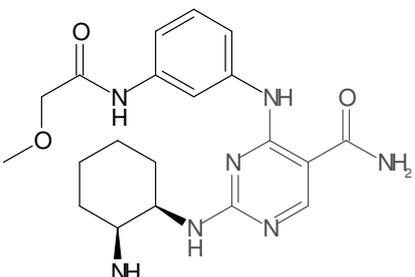
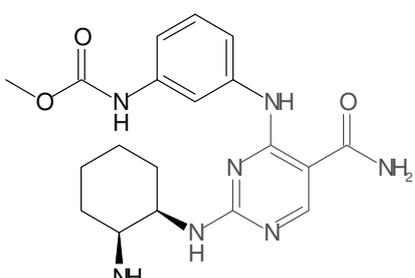
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
812		432,53	MS: 433,2 (M + H)		+++
813		409,52	410,2		+++
814		314,39	315,2		+
815		352,4	353,1		+

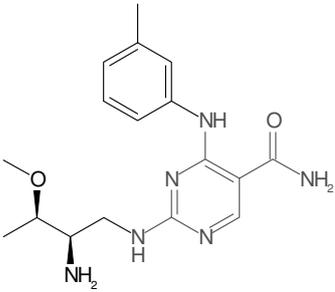
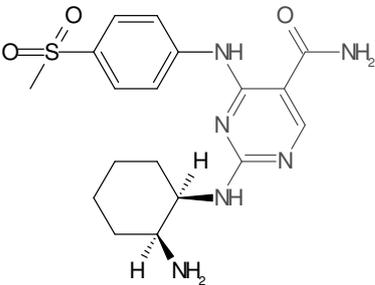
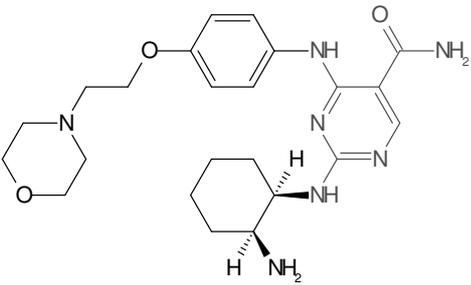
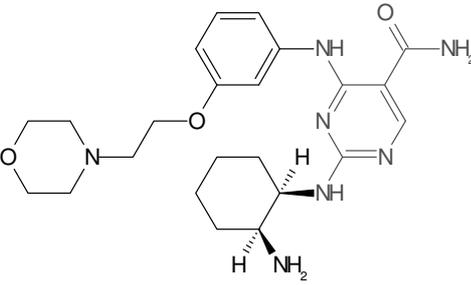
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
816		369,45	370,1		+++
817		342,4	MS: 343,2 (M + H)		+++
818		370,44	371,2		+++
819		363,43	364,2		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
820		393,45	MS: 394,27 (M + H)		+++
821		393,46	MS: 394,27 (M + H)		++++
822		330,39	331 (M+H) 331,2, 332,4 331,26, 332,35 331,4, 332,5		+++
823		408,47	MS: 409,32 (M + H)		+++

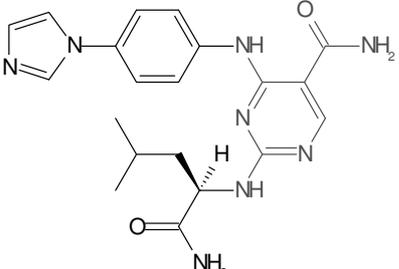
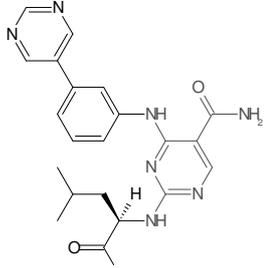
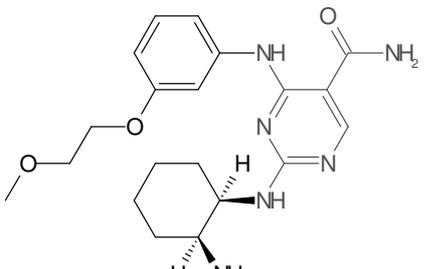
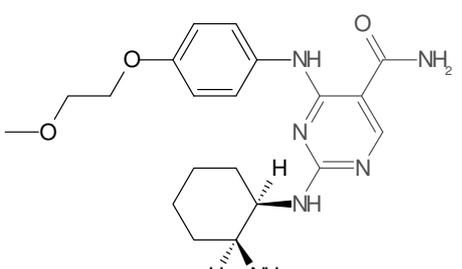
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
824		344,42	345,56, 346,27		+++
825		358,45	359,78, 360,32		+++
826		407,44	408,4 (M+1)		+
827		348,38	348,04, 350,14		+

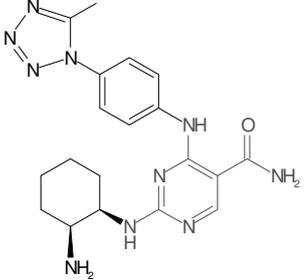
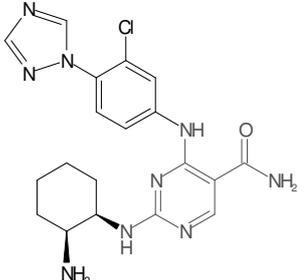
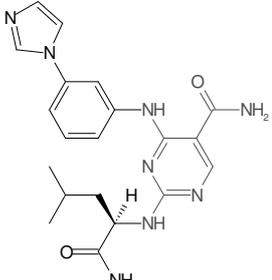
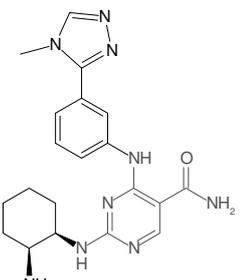
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
828		344,42	345,5, 346,6		+++
829		358,42	MS: 359,3 (M + H) MS: 359,4 (M+H)		+++
830		358,42	MS: 359,3 (M + H)		+++
831		383,46	384,4		+++

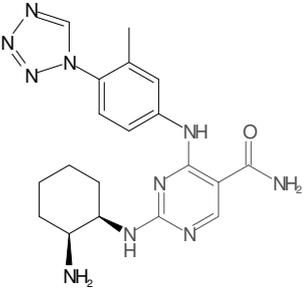
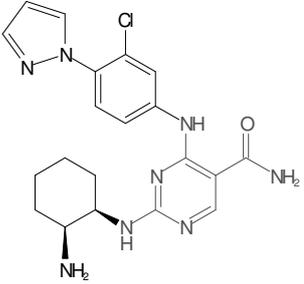
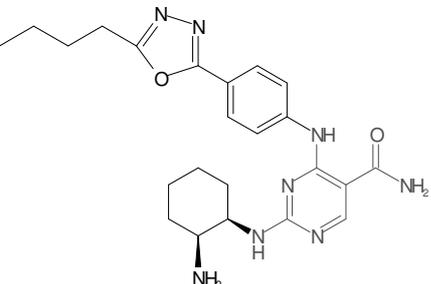
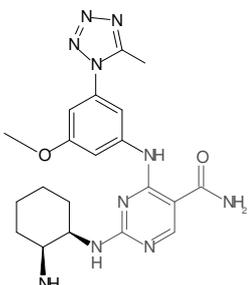
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
832		397,48	398,3		+
833		409,49	410,4		+++
834		413,48	414,3		+++
835		399,46	400,3		+++

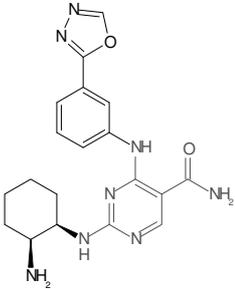
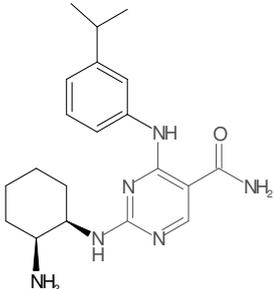
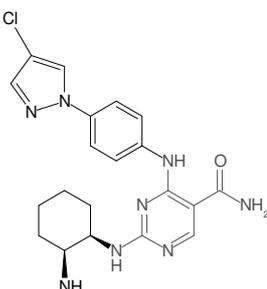
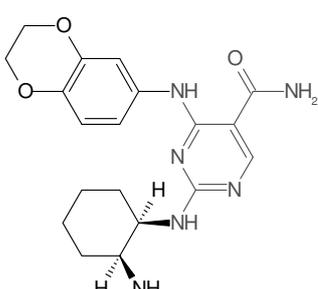
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
836		344,42	345,2, 346,4		+
837		404,49	405,3		+++
838		455,56	456,3		+++
839		455,56	456,3		+++

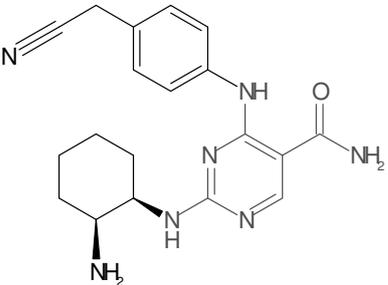
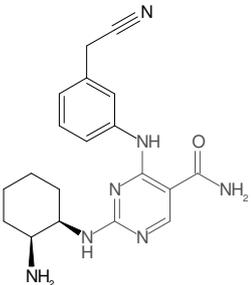
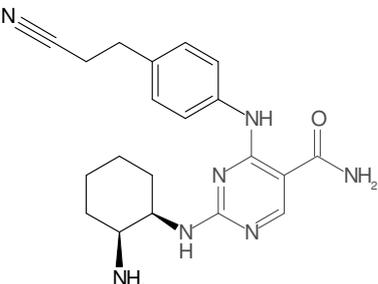
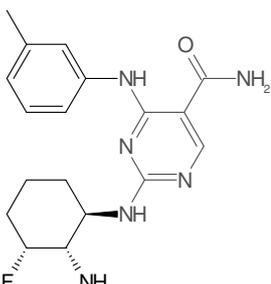
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
840		425,54	426,3		+
841		471,56	472,3		+
842		471,56	472,3		+
843		441,54	442,2, 442,8		+

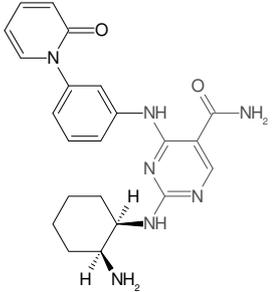
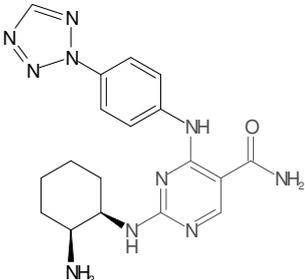
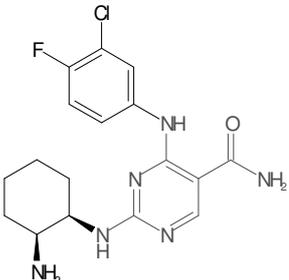
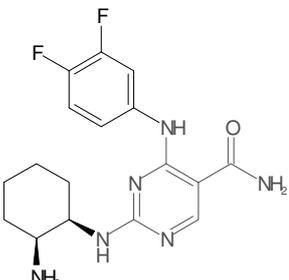
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
844		408,47	409,3		+
845		420,48	421,3		+
846		400,48	401,3		+++
847		400,48	401,3		+

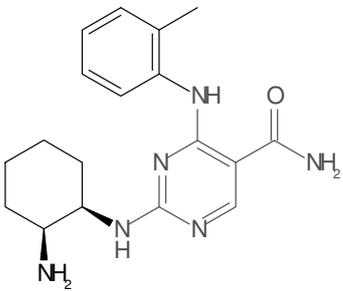
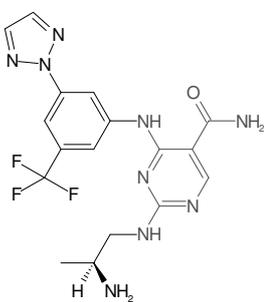
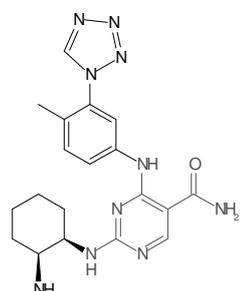
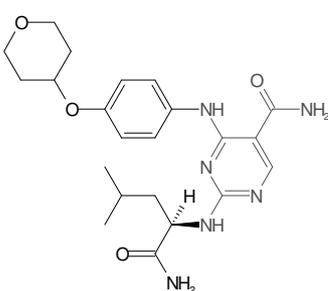
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
848		408,47	MS: 409,2 (M + H)		+
849		427,9	MS: 428,3 (M + H)		+++
850		408,47	409,3		+
851		407,48	MS: 408,3 (M + H)		+

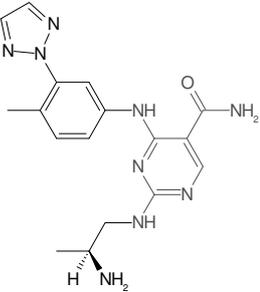
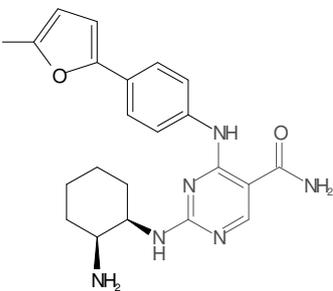
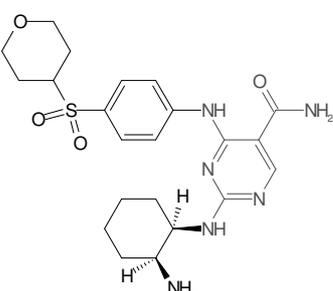
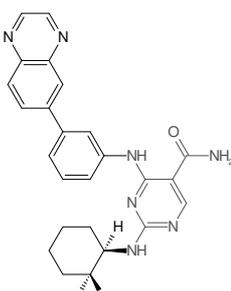
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
852		408,47	MS: 409,3 (M + H)		+++
853		426,91	MS: 427,2/429,1 (M/M+2)		+++
854		450,55	MS: 451,4 (M+H)		+++
855		438,5	MS: 439,3 (M+H)		+++

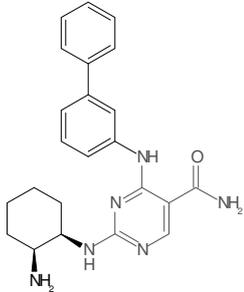
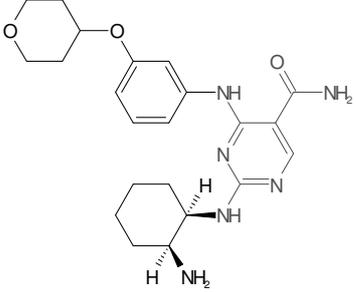
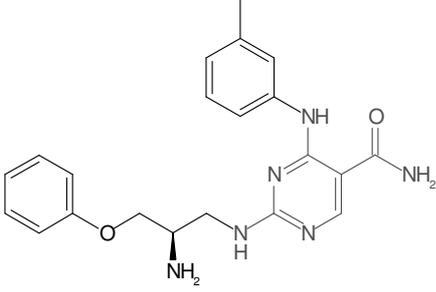
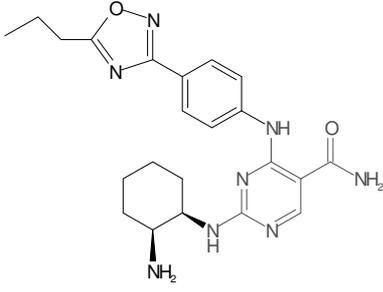
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
856		394,44	MS: 395,3 (M+H)		++++
857		368,49	MS: 369,2 (M+H)		+++
858		426,91	MS: 427,2/429,2 (M/M+2)		+++
859		384,44	385,3		+++

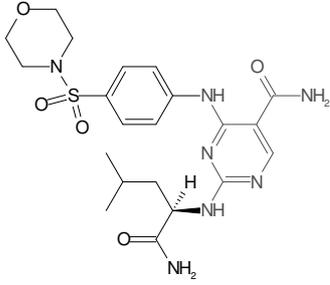
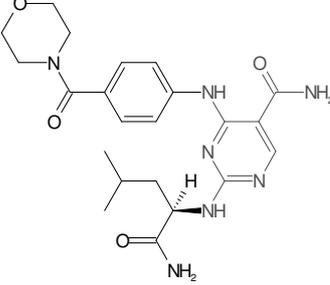
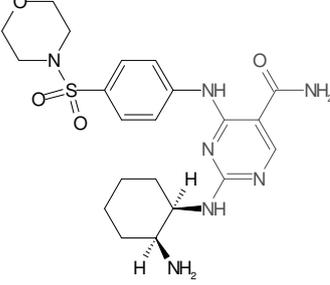
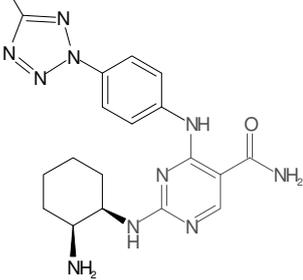
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
860		365,44	MS: 366,3 (M+H); 388,3 (M+Na)		+++
861		365,44	MS: 366,3 (M+H); 388,2 (M+Na)		++++
862		379,47	MS: 380,3 (M+H); 402,3 (M+Na)		+++
863		358,42	359,3		+

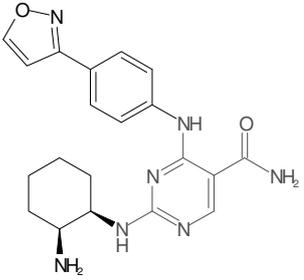
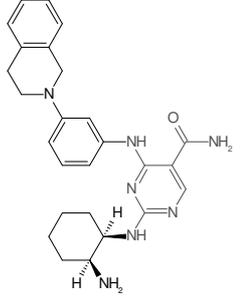
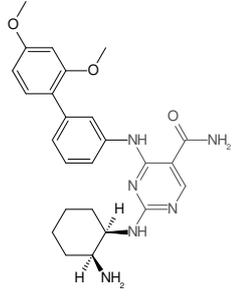
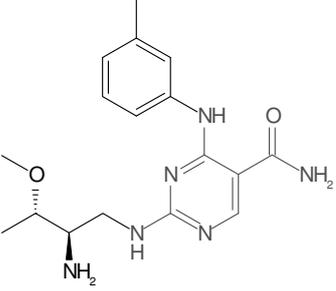
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
864		419,49	PM=419,48; M+1=420,2		+
865		394,44	MS: 395,3 (M+H); 417,3 (M+Na)		+
866		378,84	ES(+) MS [M+1]=379	214,9, 249,7	+++
867		362,38	ES(+) MS [M+1]=363	249,7	+++

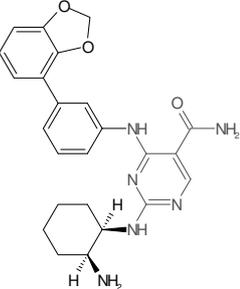
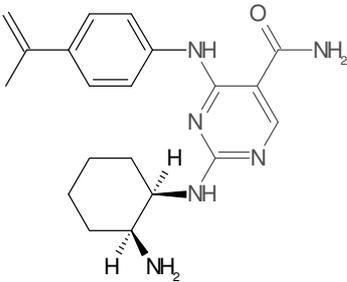
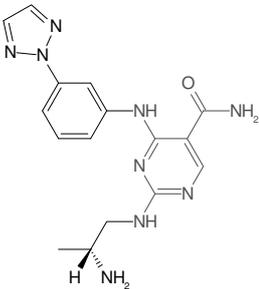
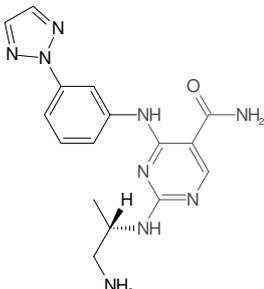
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
868		340,43	ES(+) MS [M+1]=341	231,4, 246,7	+
869		421,39	PM=421,4, M+1=422,2		+
870		408,47	MS: 409,3 (M + H)		+++
871		442,52	443,3		+

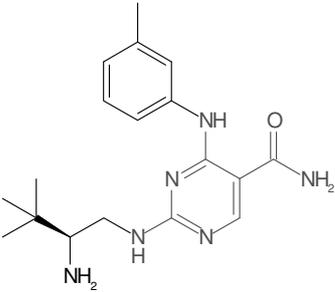
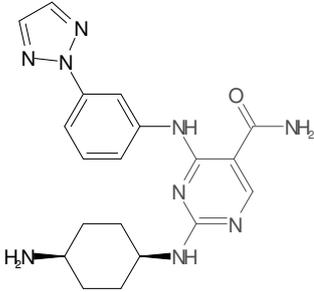
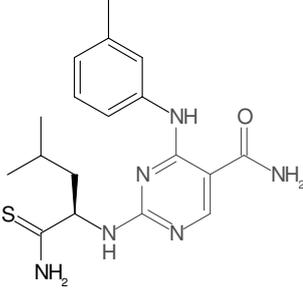
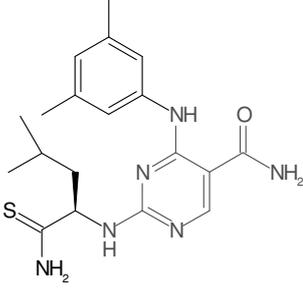
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
872		367,42	PM=367,2, M+1= 368,3		+++
873		406,49	MS: 407,2 (M+H)		+++
874		474,58	475,3		+
875		454,54	PM=454,5; M+1=455,3		+++

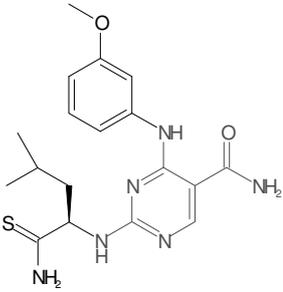
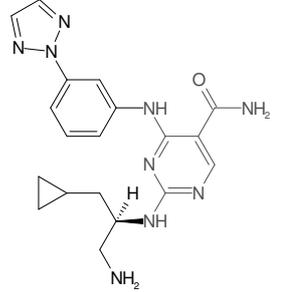
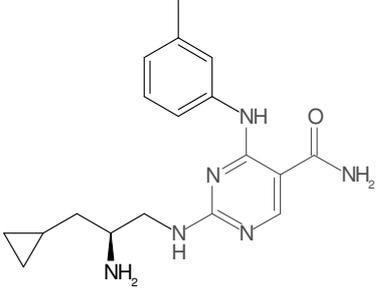
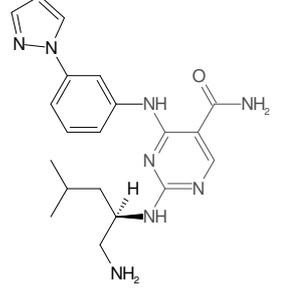
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
876		402,5	403,4		++++
877		426,52	427,3		+++
878		392,46	60 mg		+
879		436,52	MS: 437,4 (M+H)		+++

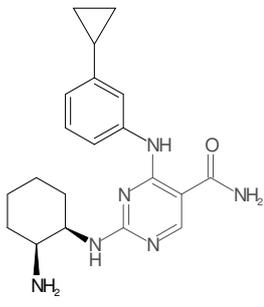
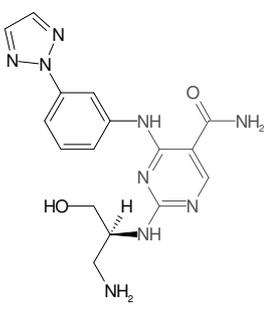
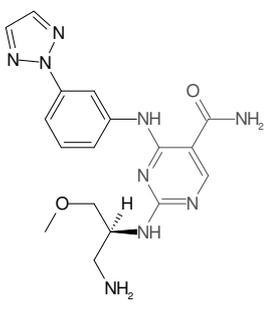
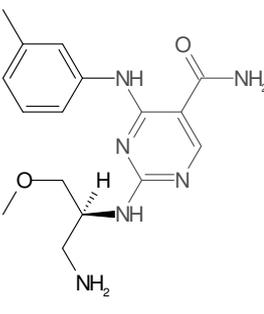
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
880		491,57	492,3		+
881		455,52	456,3		+
882		475,57	476,3		+
883		408,47	MS: 409,4 (M + H)		+

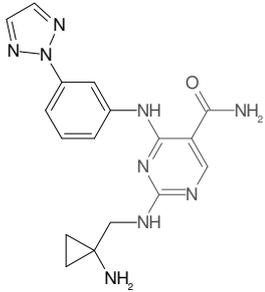
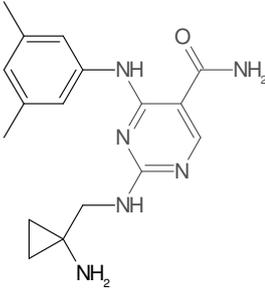
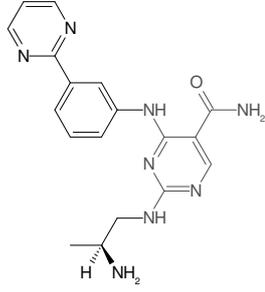
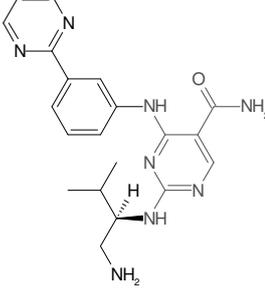
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
884		393,45	394,4		+++
885		457,58	458 PM=457,6; M+1=458,4		+++
886		462,55	PM=462,5; M+1=463,3		+++
887		344,42	345,4		+++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
888		446,51	447,2		++++
889		366,47	367,3		+++
890		353,39	354,3		+
891		353,39	354,3		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
892		342,45	343,3		+++
893		393,46	394,3		+++
894		372,5	373,4		+
895		386,52	387,5		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
896		388,49	389,4		+
897		393,46	394,5		+++
898		340,43	341,4		+++
899		394,48	395,3		+++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
900		366,47	MS: 367,4 (M+H)		++++
901		369,39	370,3		+
902		383,42	384,3		+++
903		330,39	331,3		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
904		365,4	366,3		+
905		326,4	327,3		+++
906		364,41	365,4		+
907		392,47	393,4		+++

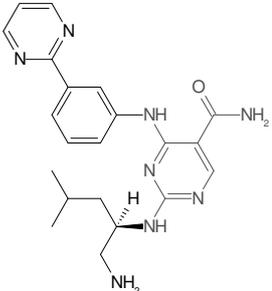
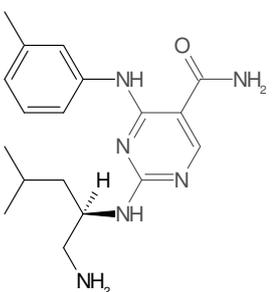
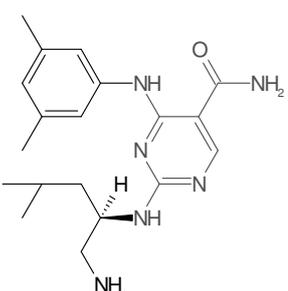
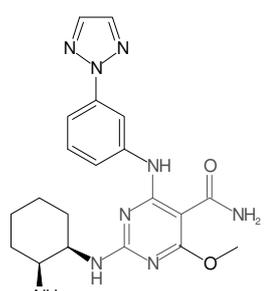
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
908		406,49	407,4		+++
909		342,45	343,4		+++
910		356,47	357,4		++++
911		423,48	424,4		

FIG. 4B

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
912		366,43	367,2, 368,1		+++
913		366,43	367,1, 368,2 367,4		+++
914		376,46	377,1, 378,5		+++
915		396,45	397,0, 398,4		+++

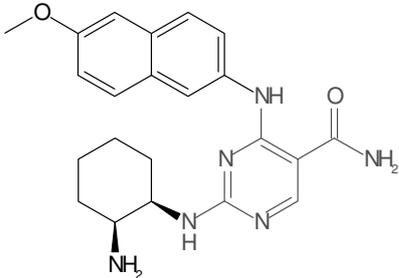
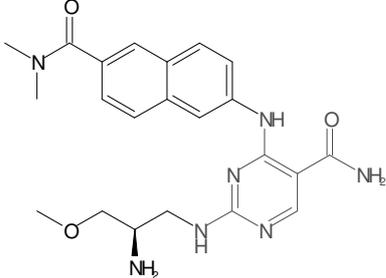
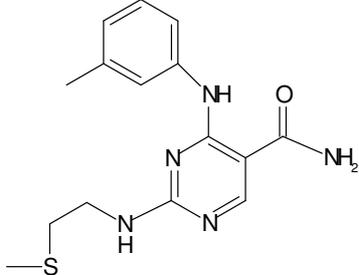
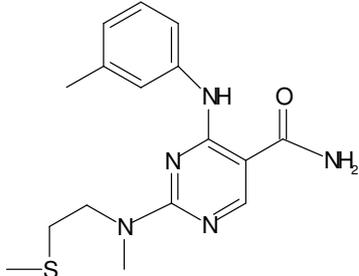
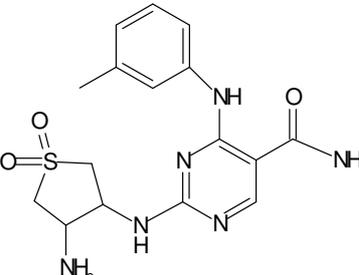
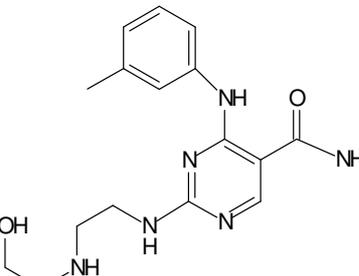
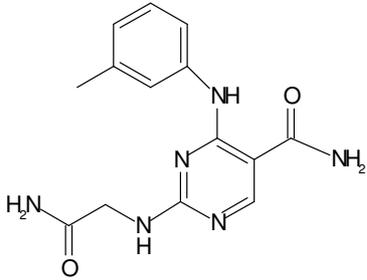
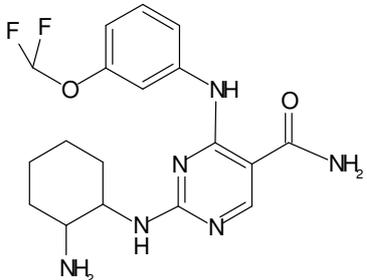
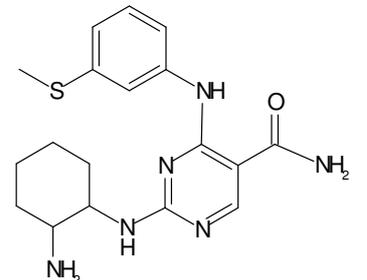
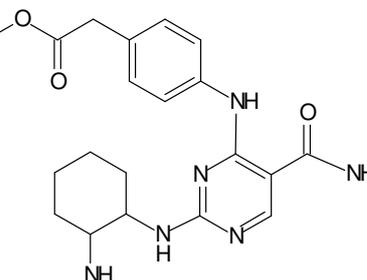
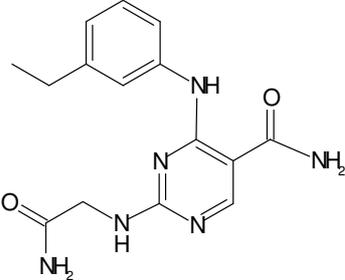
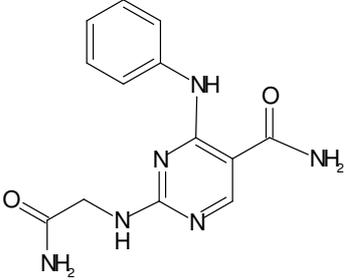
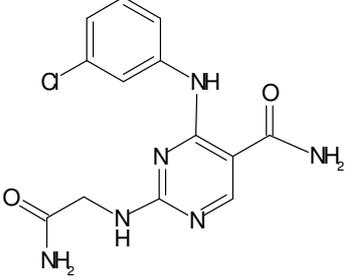
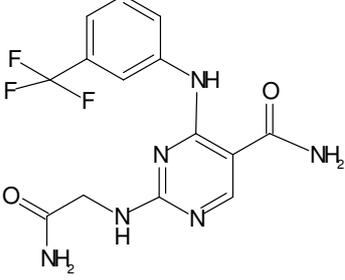
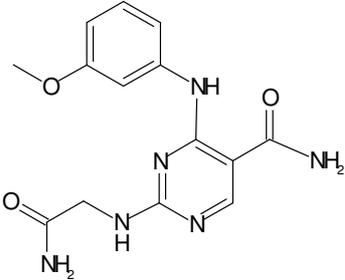
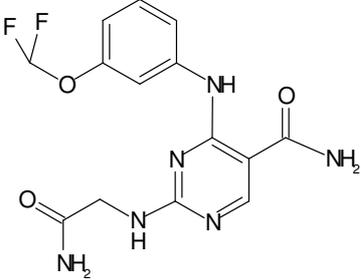
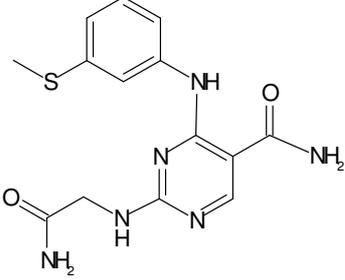
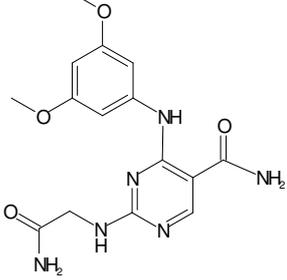
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
916		406,49	407,2, 408,5		++++
917		437,5	438,3, 439,3		+++

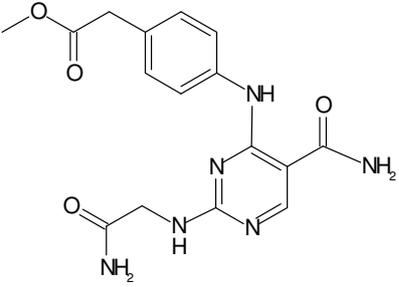
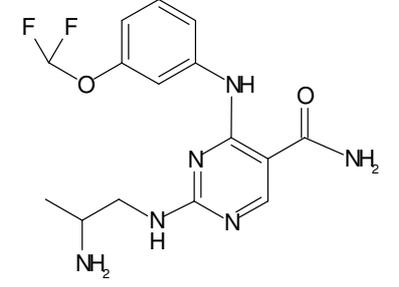
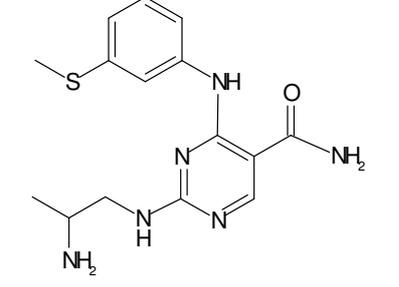
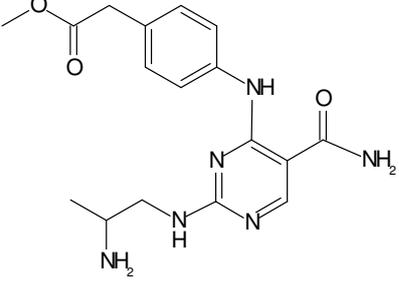
FIG. 4C

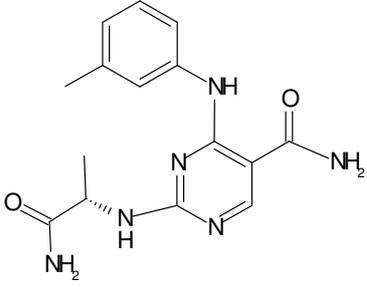
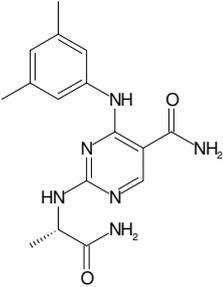
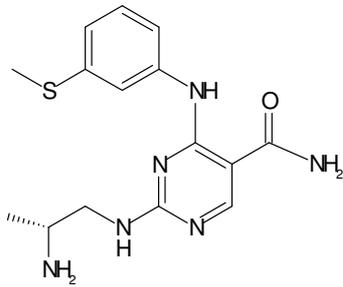
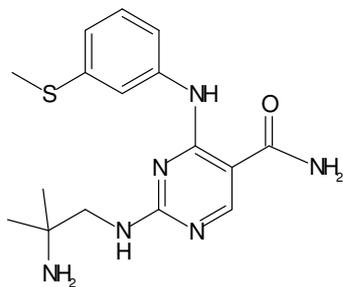
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
918			+
919			+
920			+
921			+

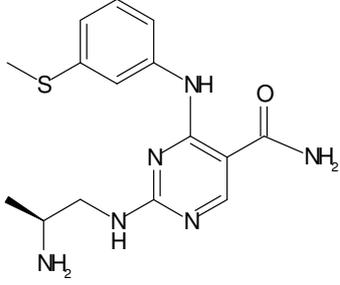
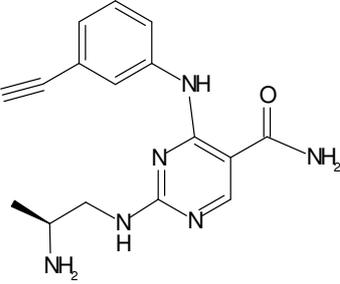
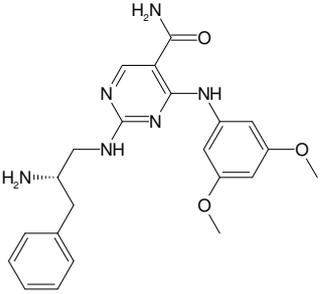
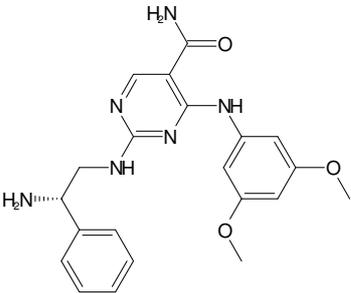
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
922			+
923			+
924			+
925			+

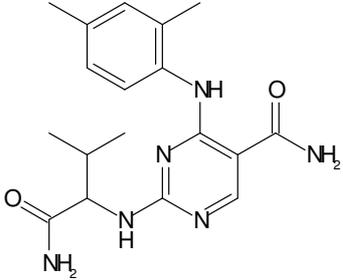
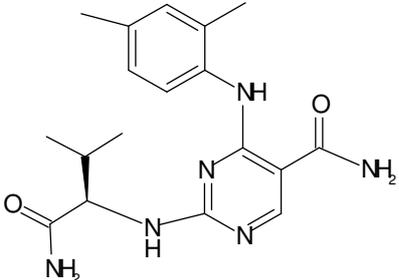
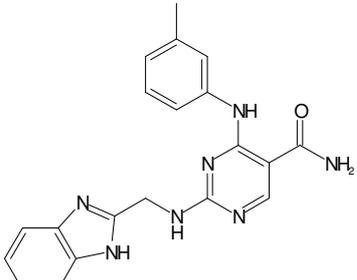
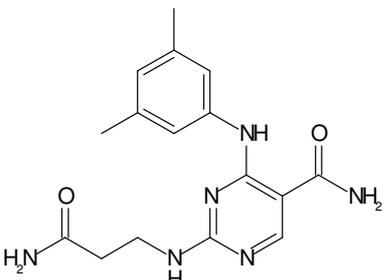
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
926			+
927			+
928			+
929			+

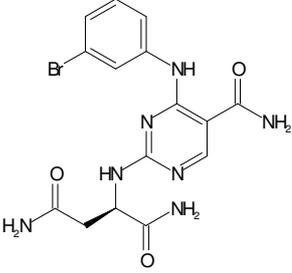
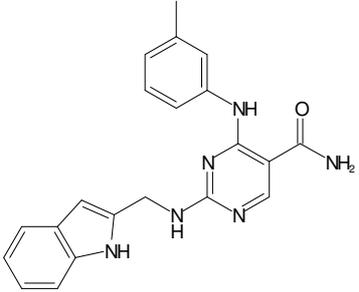
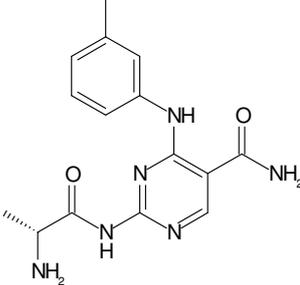
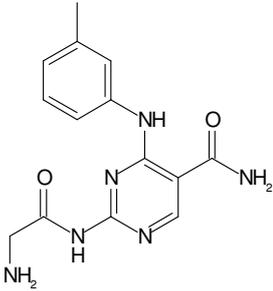
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
930			+
931			+
932			+
933			+

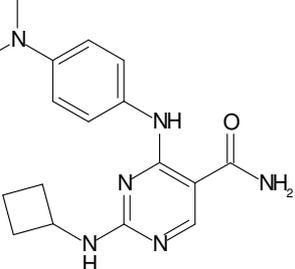
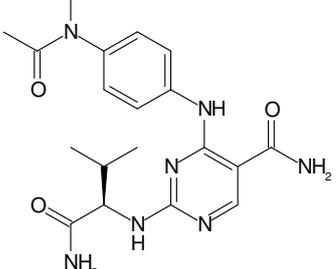
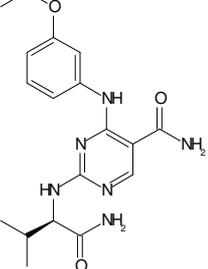
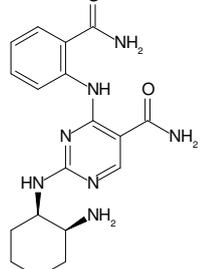
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
934			+
935			+
936			+
937			+

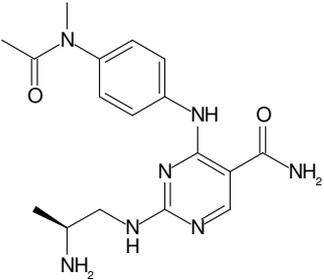
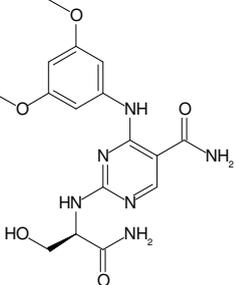
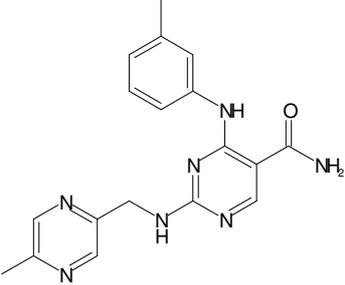
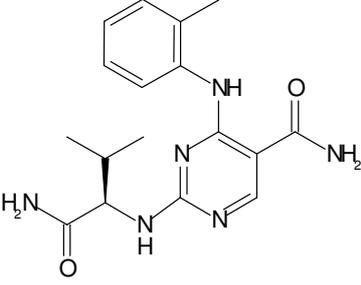
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
938			+
939			+
940			+
941			+

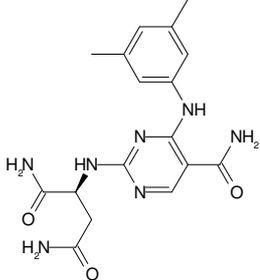
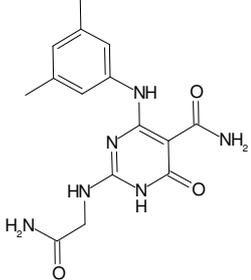
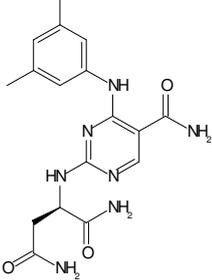
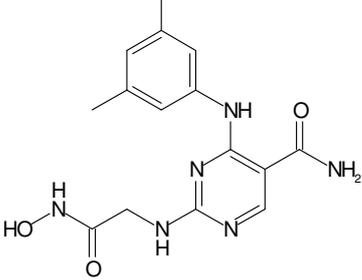
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
942			+
943			+
944			+
945			+

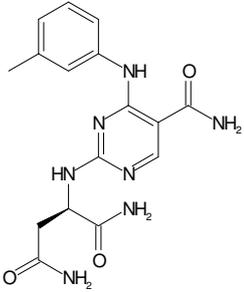
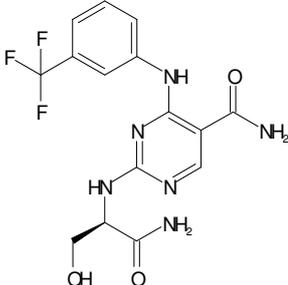
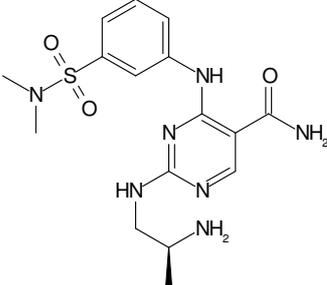
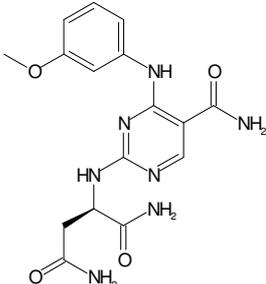
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
946			+
947			+
948			+
949			+

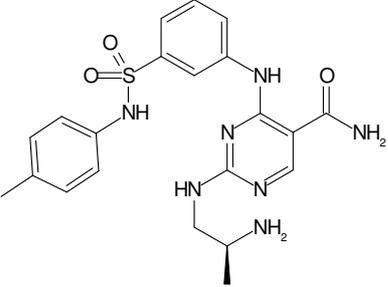
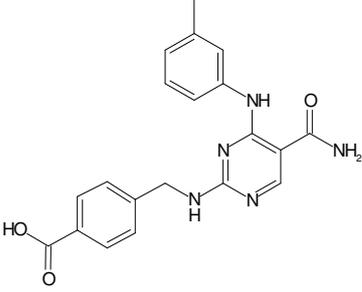
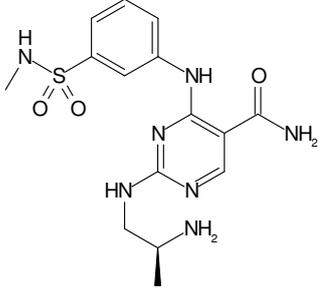
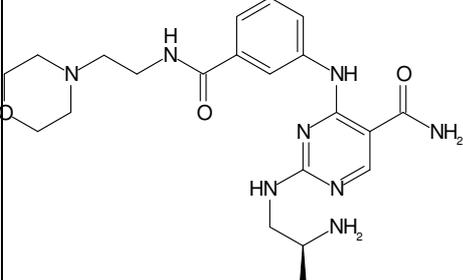
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
950			+
951			+
952			+
953			+

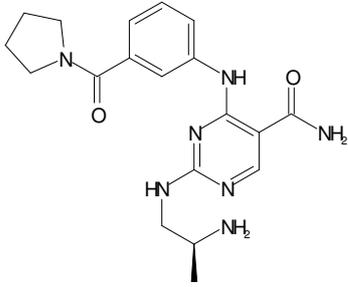
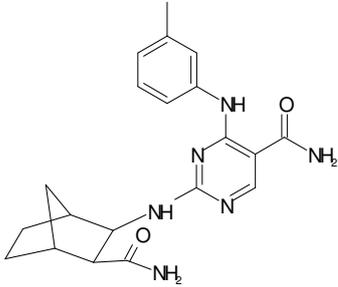
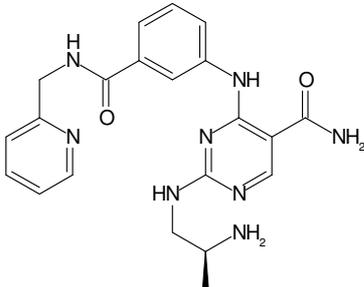
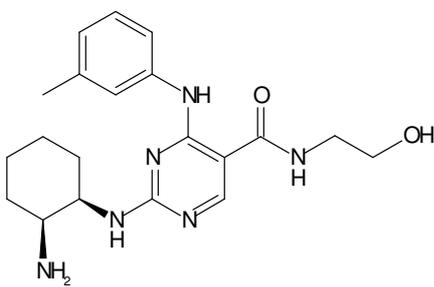
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
954			+
955			+
956			+
957			+

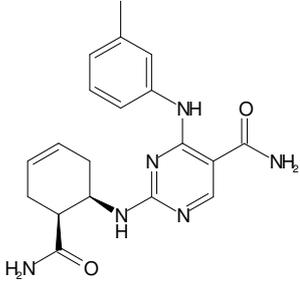
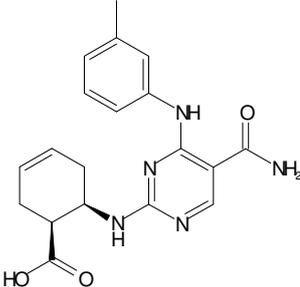
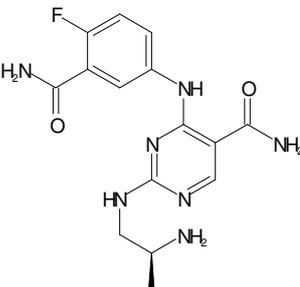
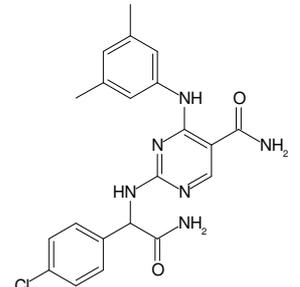
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
958			+
959			+
960			+
961			+

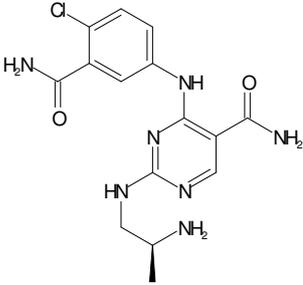
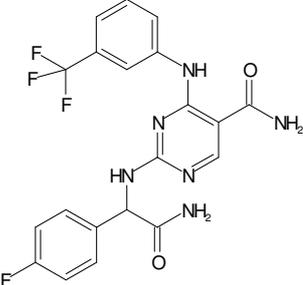
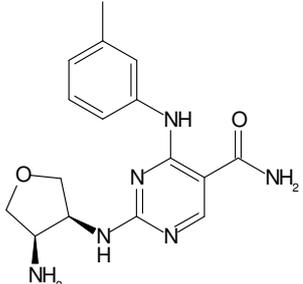
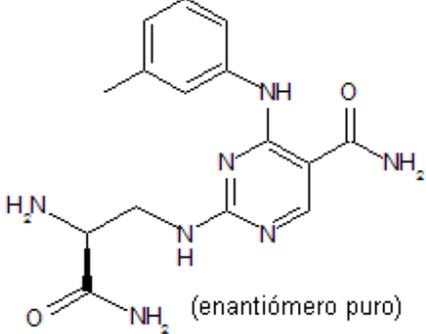
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
962			+
963			+
964			+
965			+

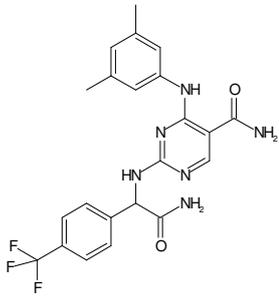
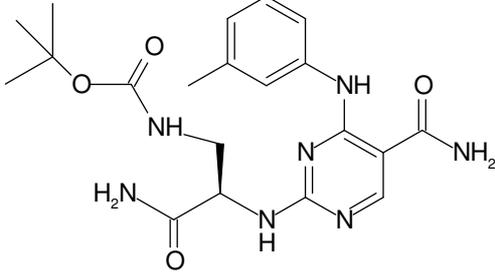
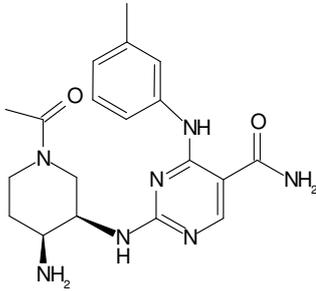
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
966			+
967			+
968			+
969			+

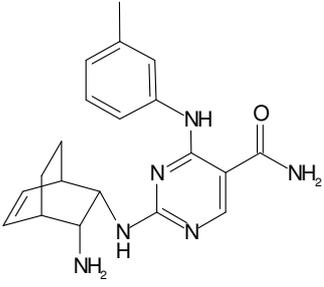
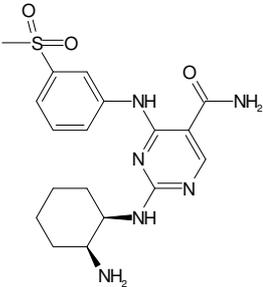
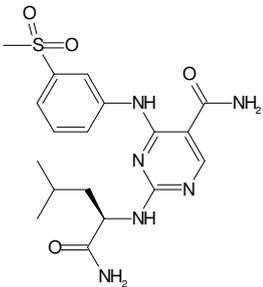
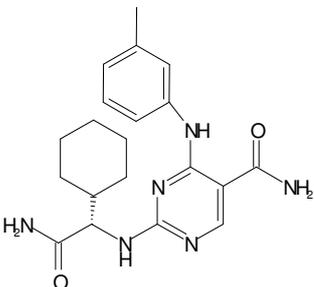
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
970			+
971			+
972			+
973			+

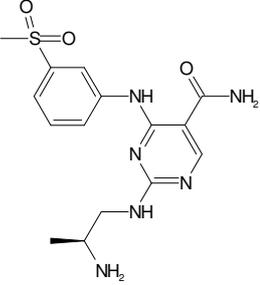
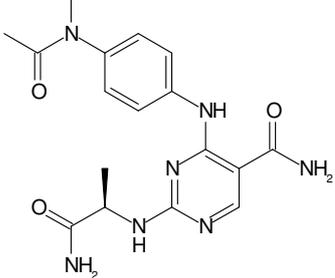
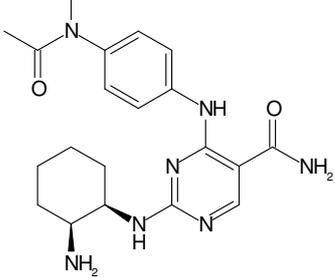
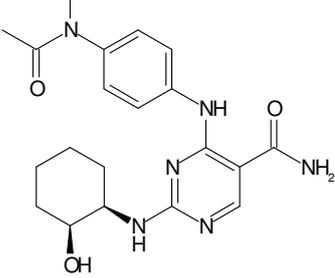
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
974			+
975			+
976			+
977			+

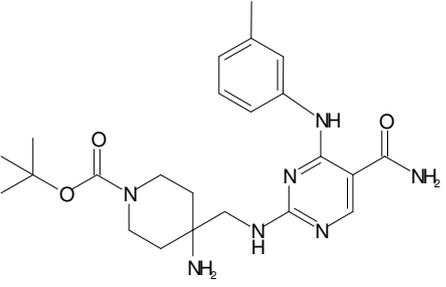
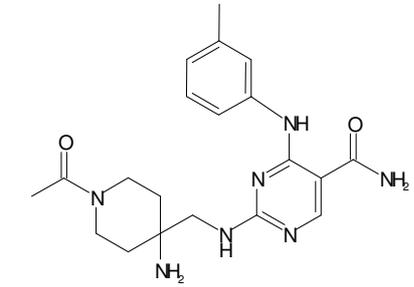
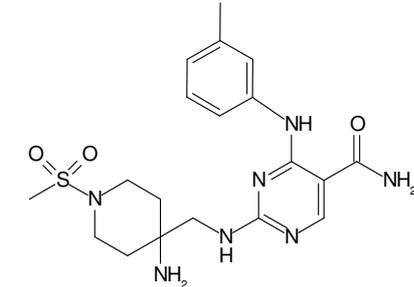
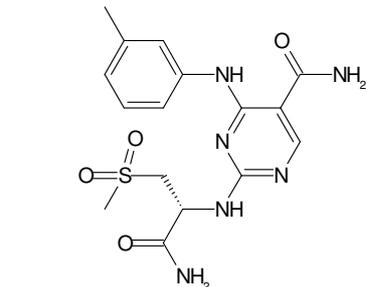
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
978			+
979			+
980			+
981			+

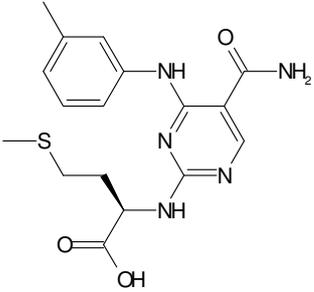
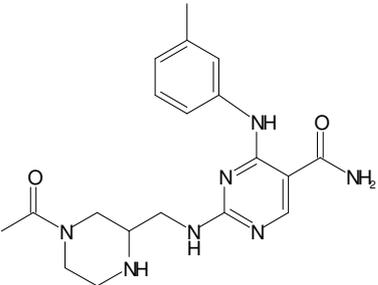
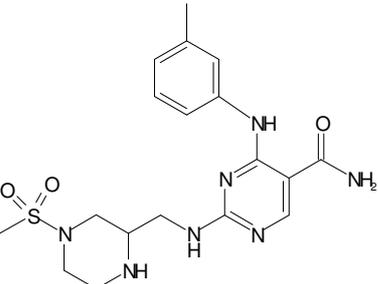
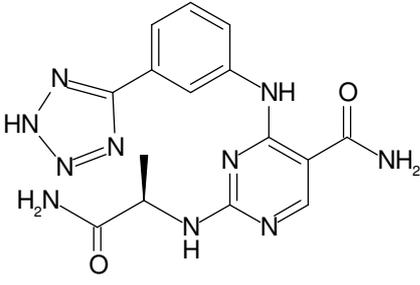
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
982			+
983			+
984			+
985	 <p>(enantiómero puro)</p>		+

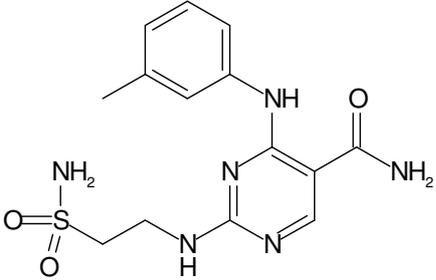
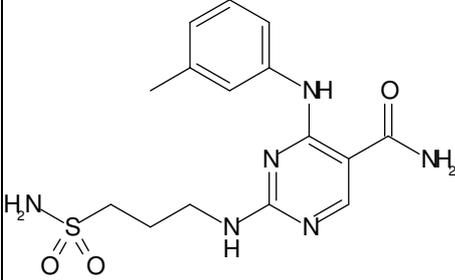
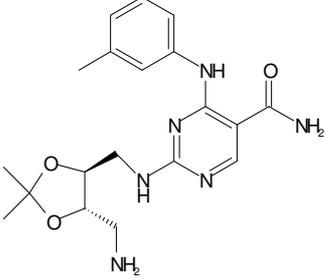
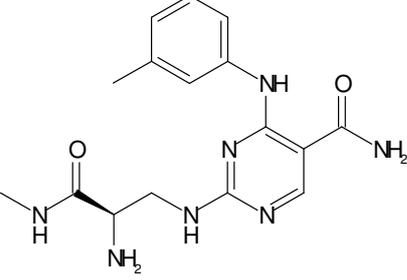
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
986			
987			+
988			+
989			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
990			+
991			+
992			+
993			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
994			+
995			+
996			+
997			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
998			+
999			+
1000			+
1001			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
1002			+
1003			+
1004			+
1005			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
1006			+
1007			+
1008			+
1009			+

Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
1010			+
1011			+
1012			+
1013			+

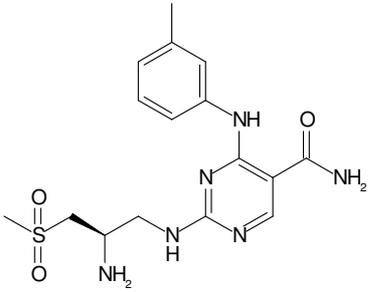
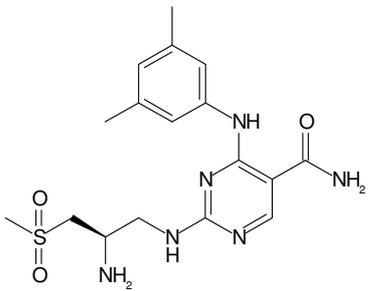
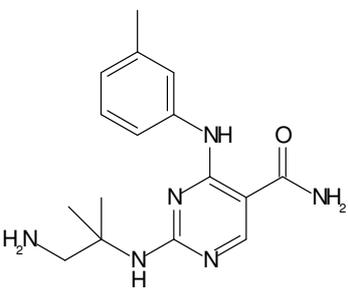
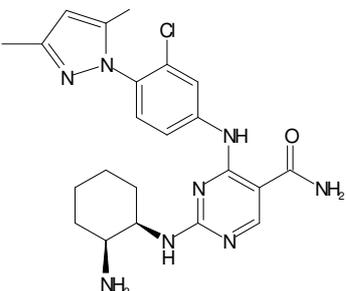
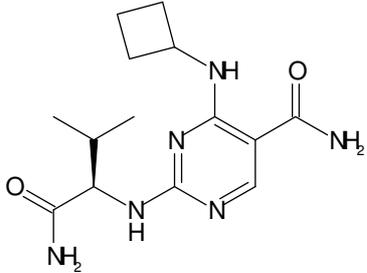
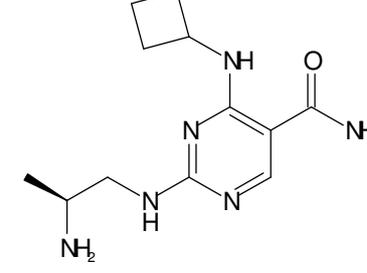
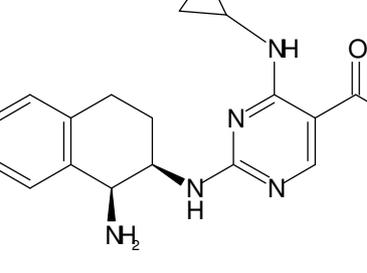
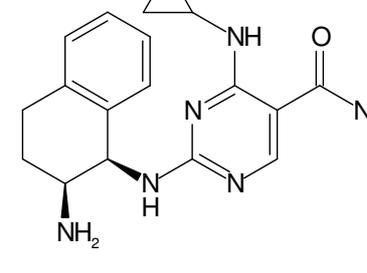
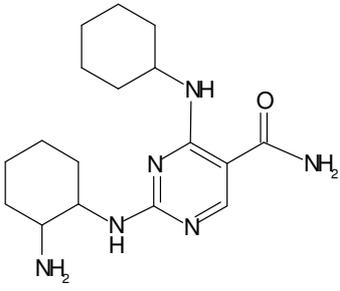
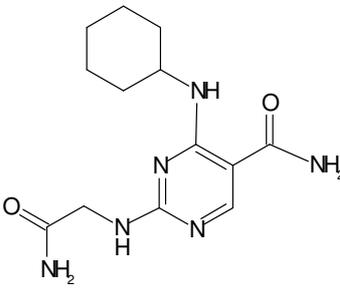
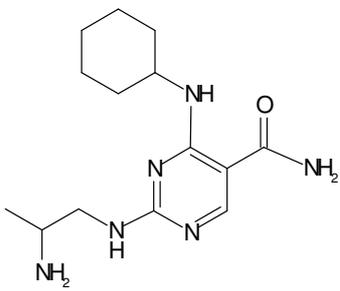
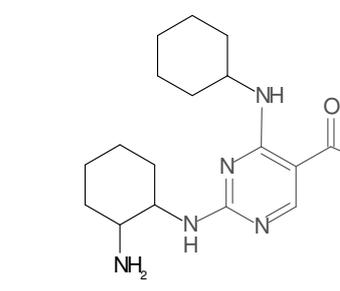
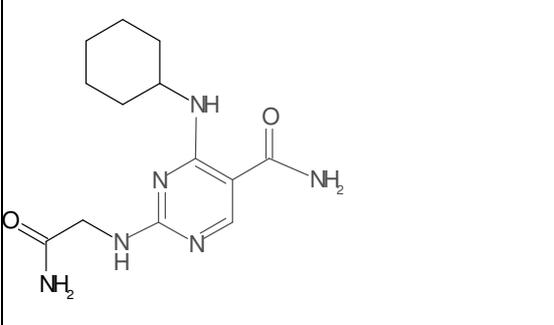
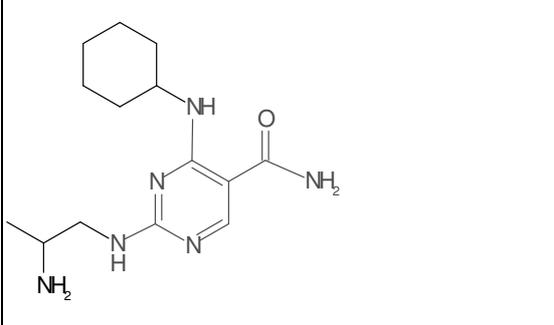
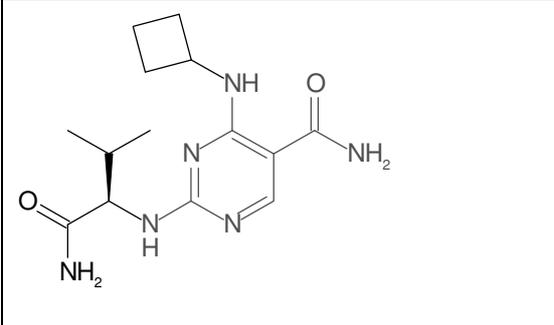
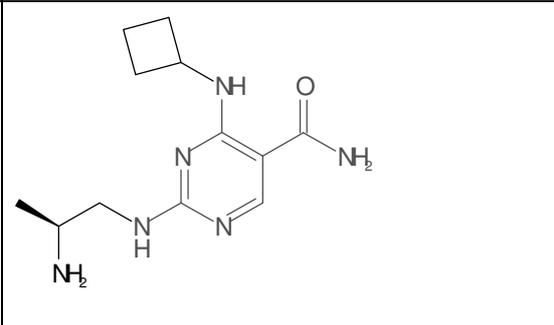
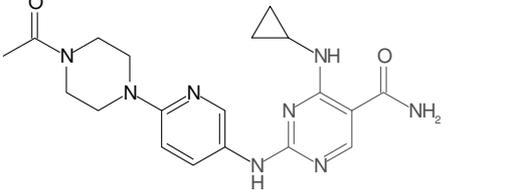
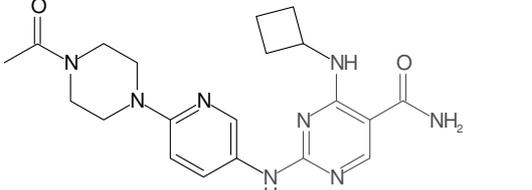
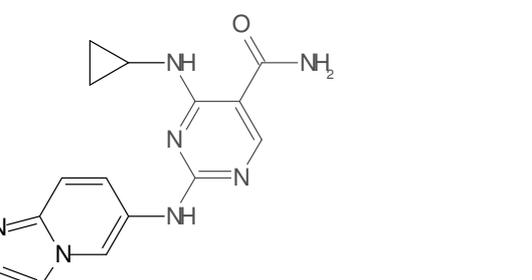
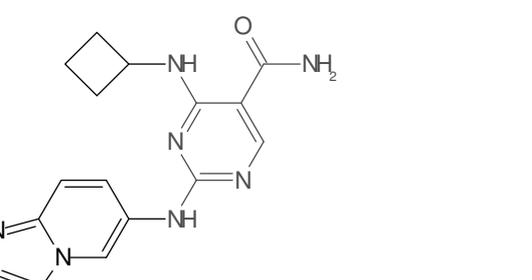
Ejemplo N.º	Compuesto	UV	Código de CI50 de Syk
1014			+
1015			+
1016			+
1017			+

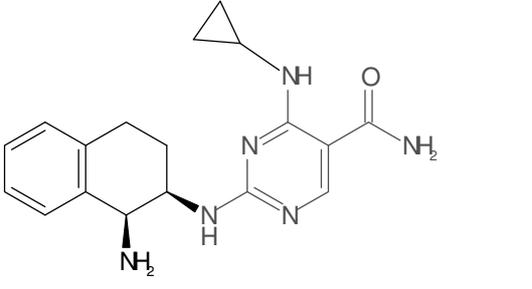
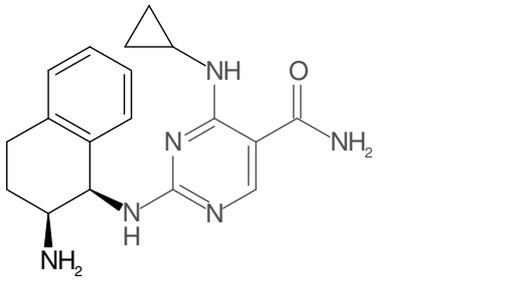
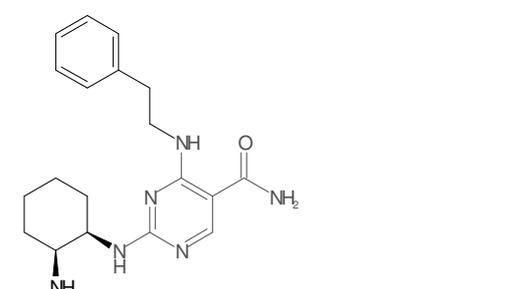
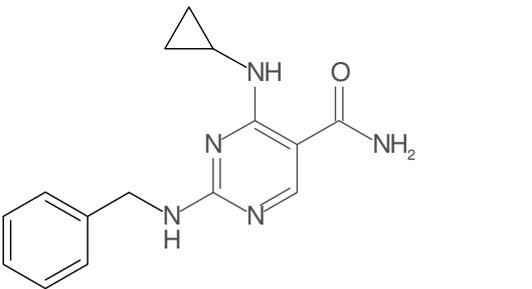
FIG. 5

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1018					+
1019					+
1020					+
1021					+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1022					+
1023					+
1024					+
1025		332,452			+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1026		292,343			+
1027		292,387			+
1028		306,37	307,3		+
1029		264,333	265,2		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1030		396,455	397		++
1031		410,482	411		++
1032		309,333	310,2		+
1033		323,36	324,2		+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1034		338,415	339,2 (M+1)		+
1035		338,415	339,2 (M+1)		+
1036		354,458	355,4		+
1037		283,335	284,4		+

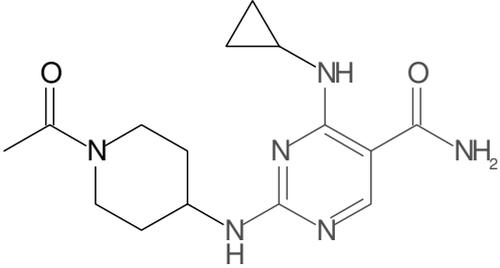
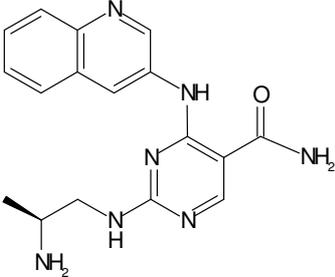
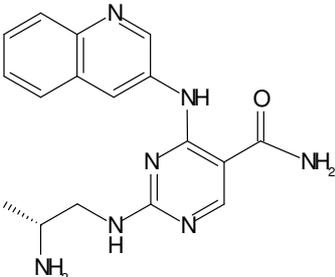
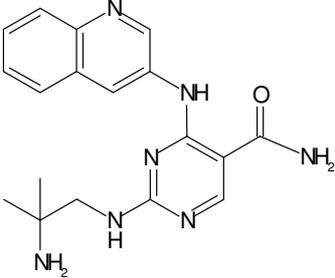
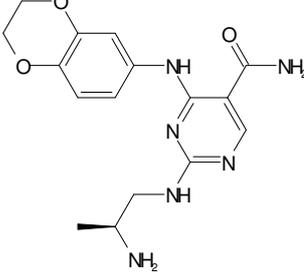
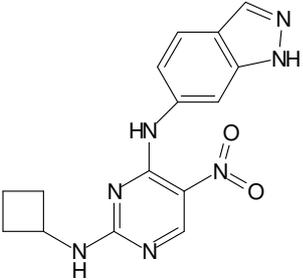
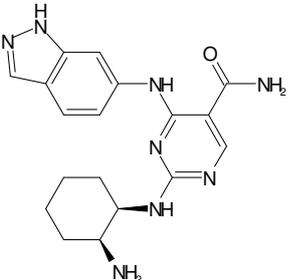
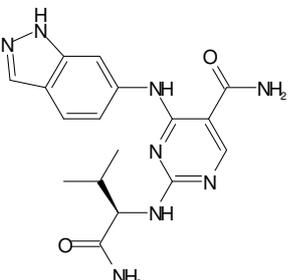
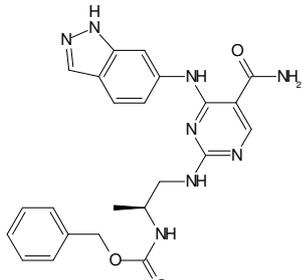
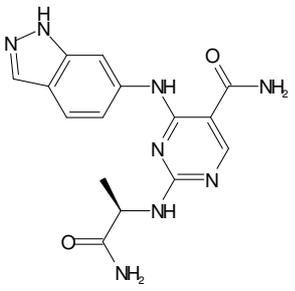
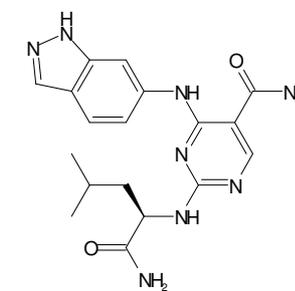
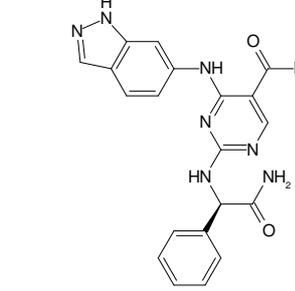
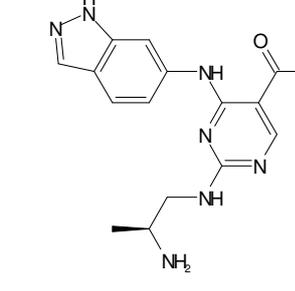
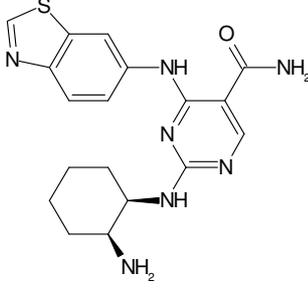
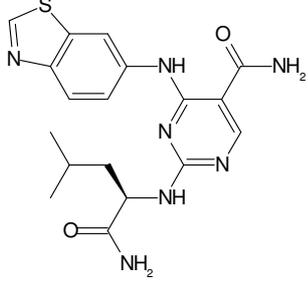
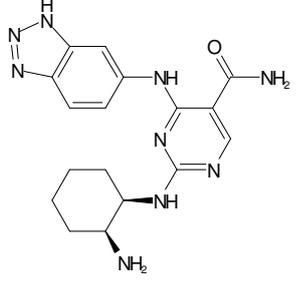
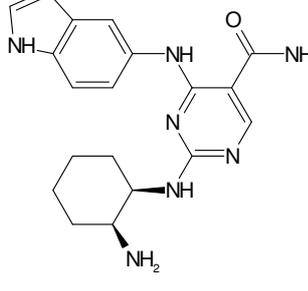
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Syk CI50
1038		318,381	319,4		+

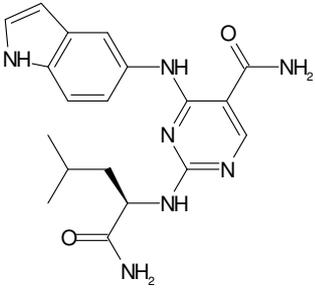
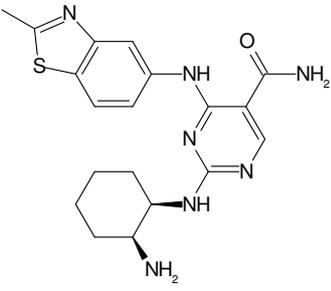
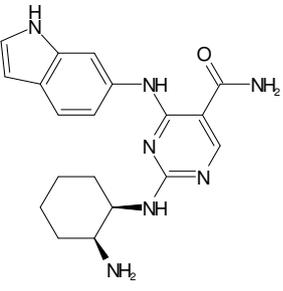
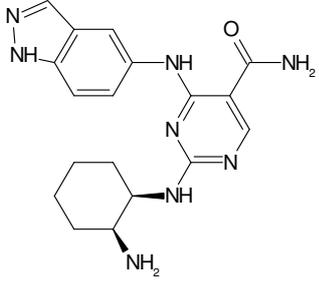
FIG. 6

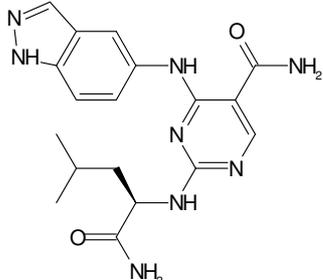
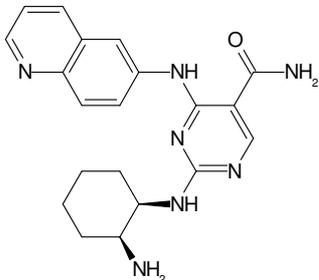
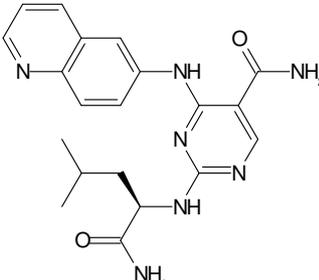
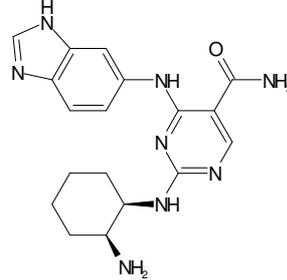
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código Cl50 de Syk
1039		337,39	338,2 (M+1)		+++
1040					
1041					
1042		344,38	345,1		++

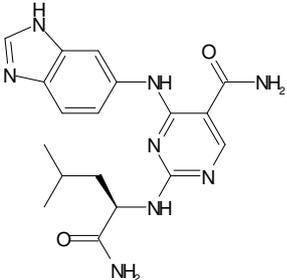
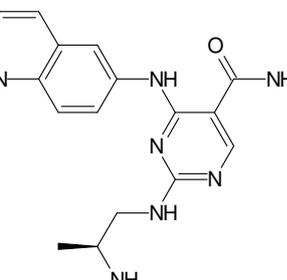
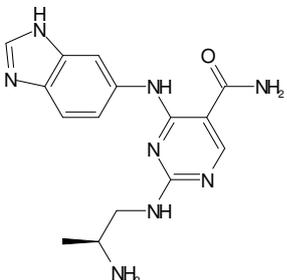
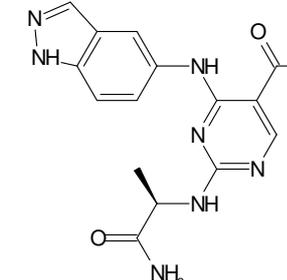
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1043					+
1044		366,43	367,2		++++
1045		368,4	369,2		+++
1046					+

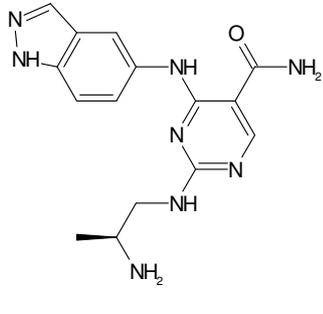
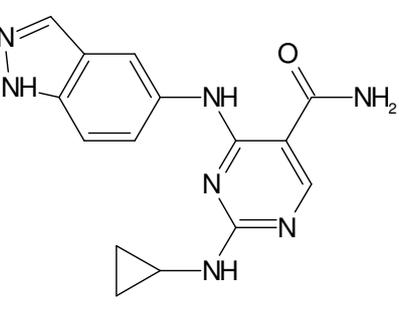
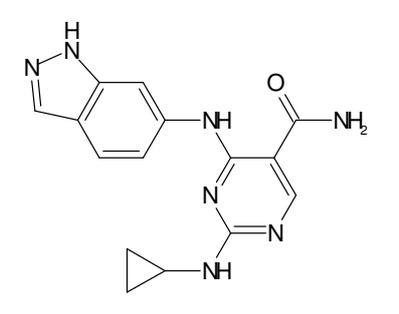
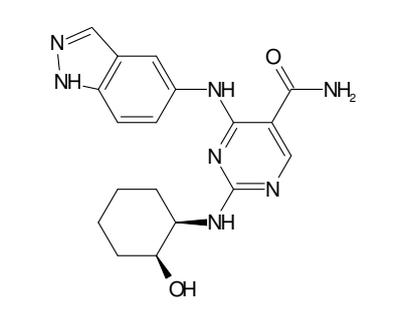
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1047		340,35	341,1		+
1048		382,43	383,1		+++
1049		402,42	403,1		+
1050		326,36	327,1		+++

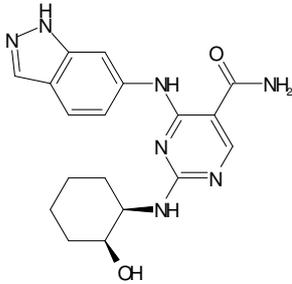
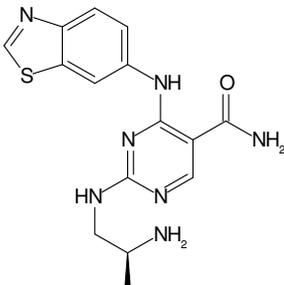
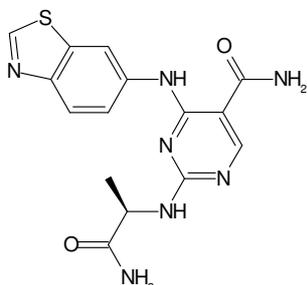
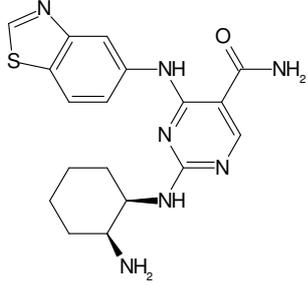
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1051		383,48	384,1 384,2		+++
1052		399,48	399,1		+++
1053		367,42	368,1		+++
1054		365,44	366,1		++++

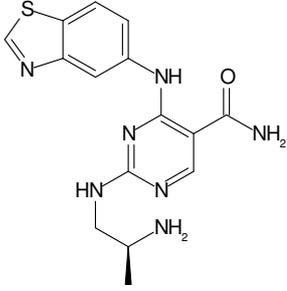
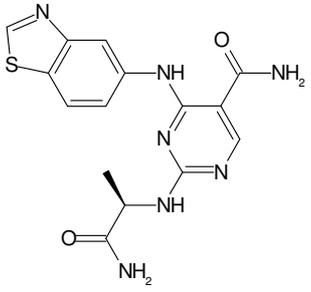
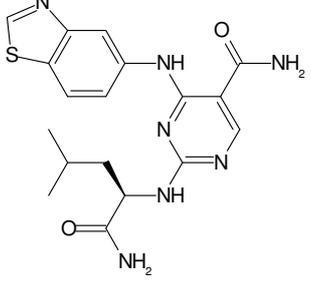
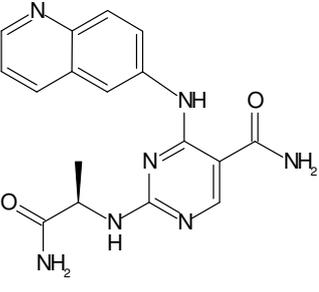
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1055		381,44	382,1		+++
1056		397,51	398,1		+++
1057		365,44	366,2		++++
1058		366,43	367,2		++++

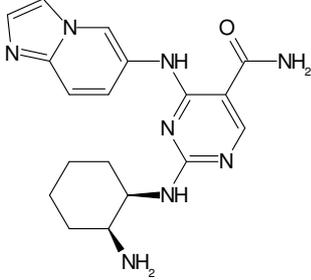
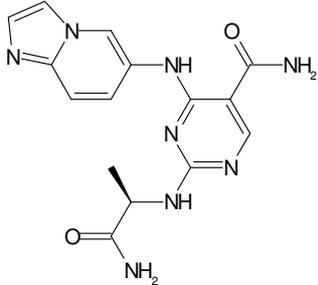
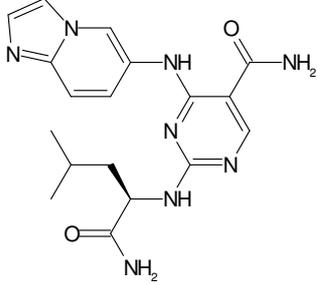
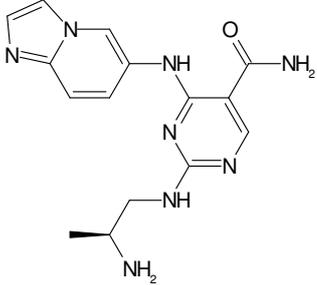
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1059		382,43	383,2		+++
1060		377,45	378,1 378,2 (M+1)		++++
1061		393,45	394,1 394,2 (M+1)		+++
1062		366,43	367,2		+++

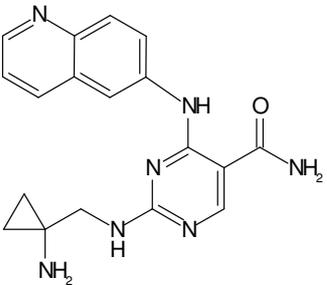
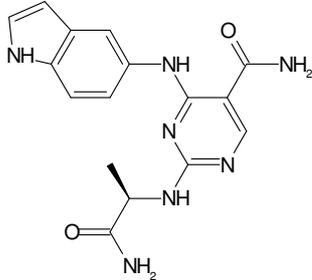
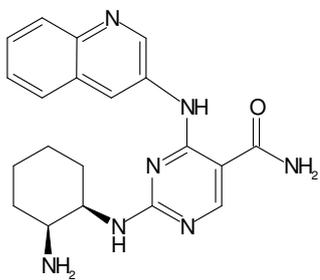
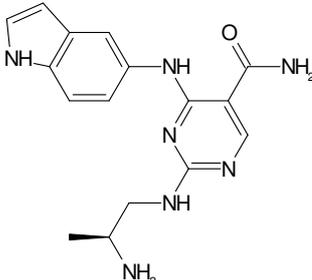
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1063		382,43	383,2		+++
1064		337,39	338,1 (M+1) 338,2 Turbopulverización MS [M+1]=338 Turbopulverización MS [M+1]=338		+++
1065		326,36	327,2		+++
1066		340,35	341,2		+

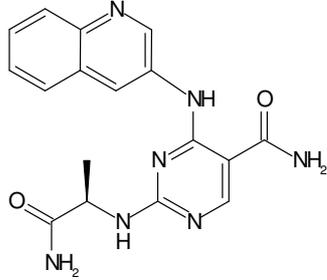
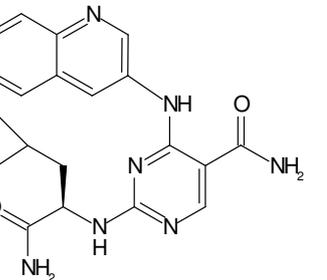
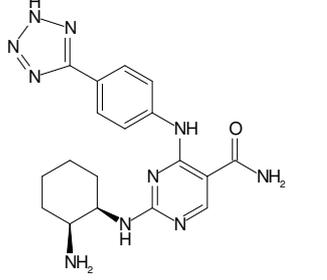
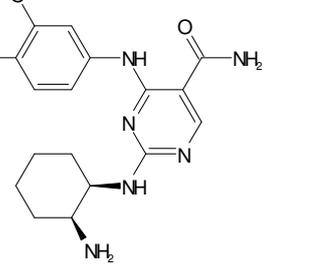
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1067		326,36	327,2		+++
1068		309,33	310,2		+
1069		309,33	310,2		+
1070		367,41	368,2		+

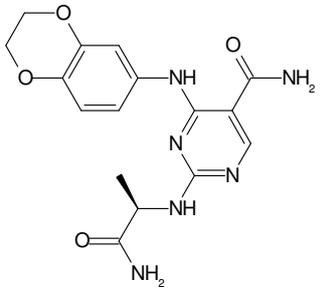
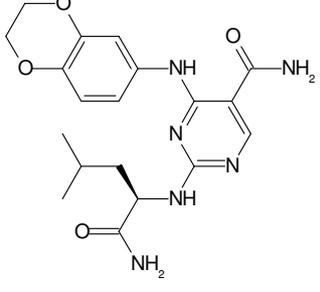
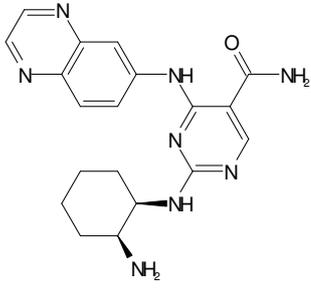
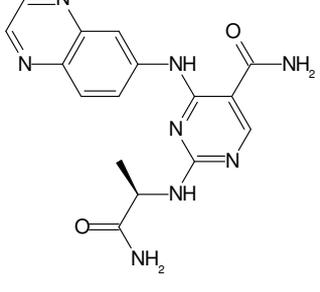
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1071		367,41	368,2		+
1072		343,41	344,2 Turbopul- verización MS [M+1]=344		+++
1073		357,4	358,2		+
1074		383,48	384,2		+++

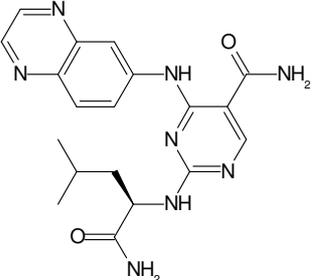
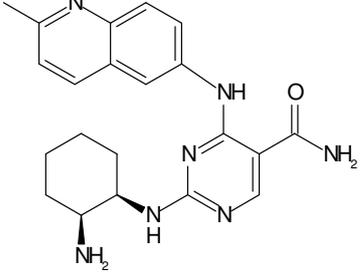
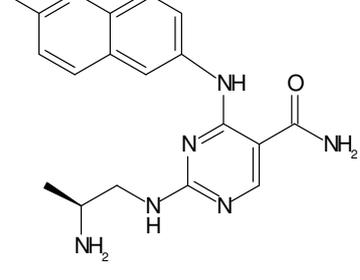
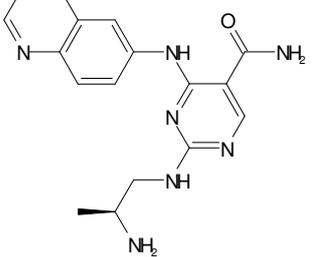
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1075		343,41	344,2 Turbopul- verización MS [M+1]=344		+++
1076		357,4	358,2		+
1077		399,48	400,2		+++
1078		351,37	352,1 (M+1)		+++

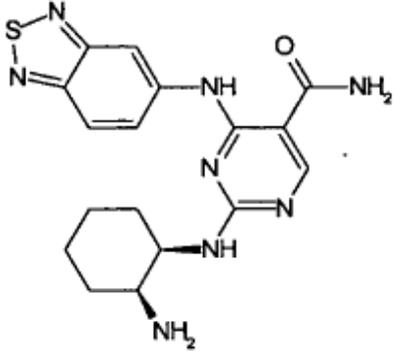
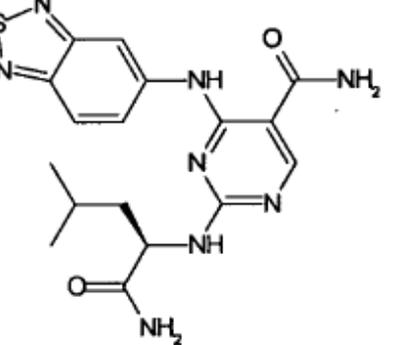
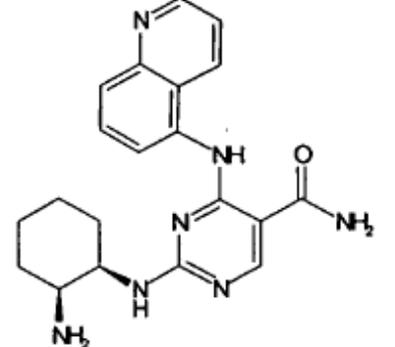
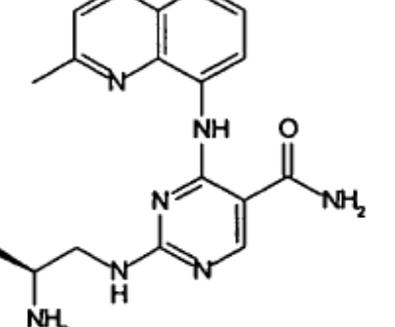
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1079		366,43	367,1		+++
1080		340,35	341,1		+
1081		382,43	383,1		+++
1082		326,36	327,1		+

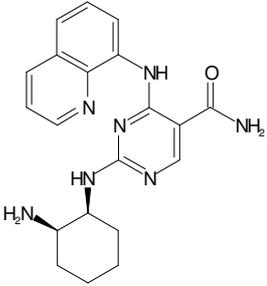
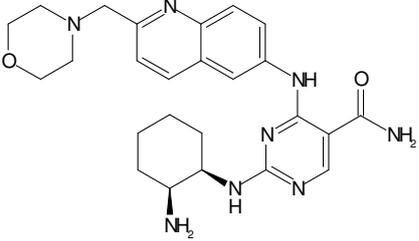
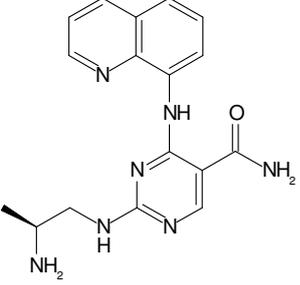
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1083		349,4	350,1 (M+1) 350,21 (M+1)		+++
1084		339,36	340,1		+
1085		377,45	378,2 (M+1)		+++
1086		325,38	326,1		+++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1087		351,37	352,1 (M+1)		+++
1088		393,45	394,2 (M+1)		+++
1089		394,44	MS: 395,2 (M + H)		+++
1090		384,44	385,1		+++

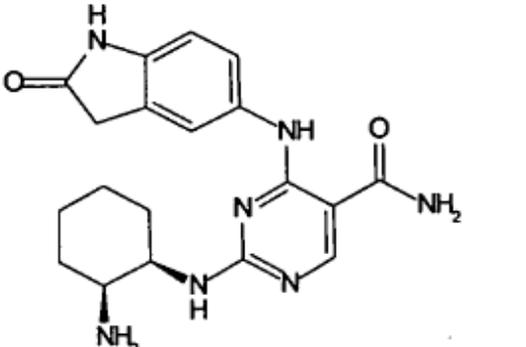
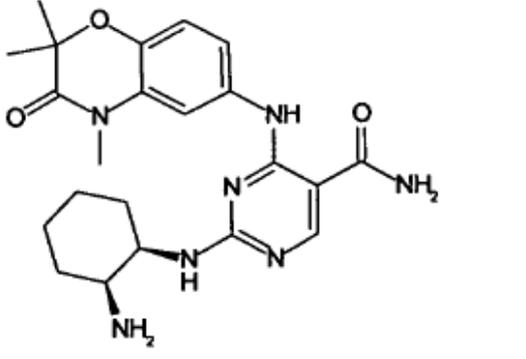
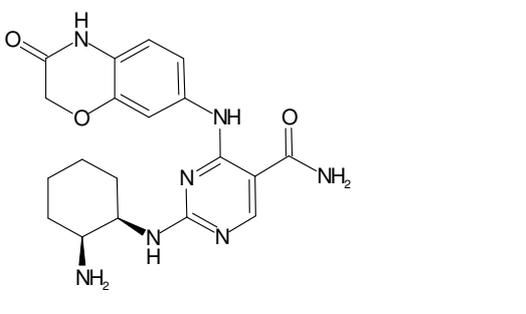
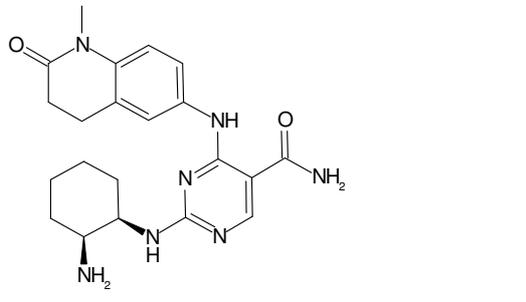
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1091		358,36	359,1		+
1092		400,44	401,1		+
1093		378,44	379,2		+++
1094		352,36	353,2		+

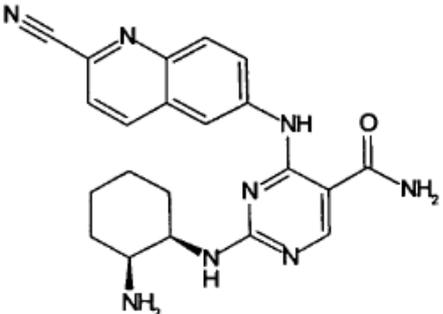
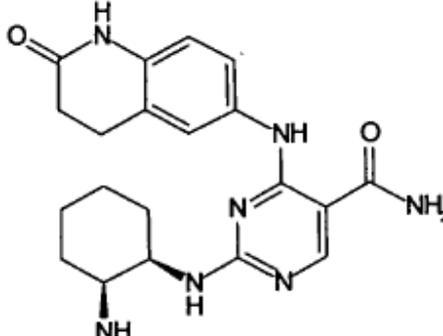
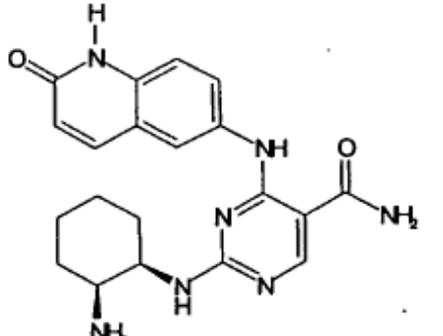
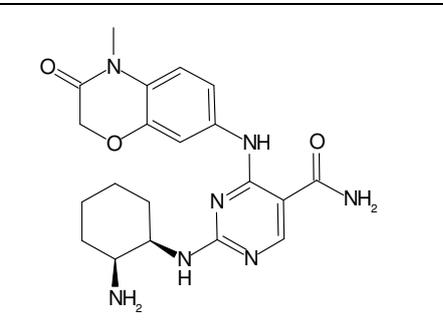
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1095		394,44	395,2		+++
1096		391,48	392,2 (M+1)		+++
1097		351,41	352,1 (M+1)		+++
1098		338,38	339,1		+

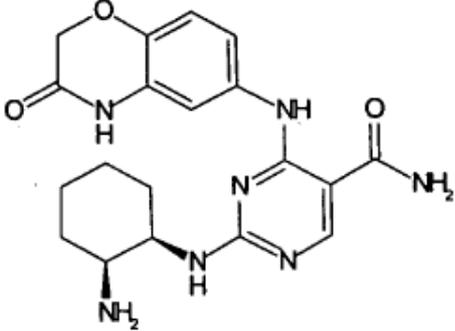
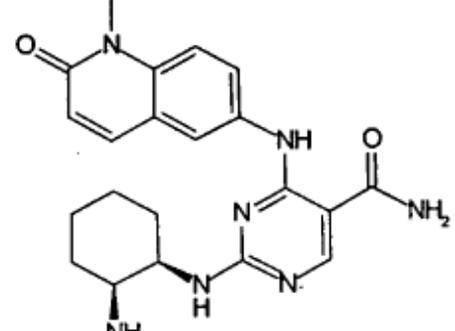
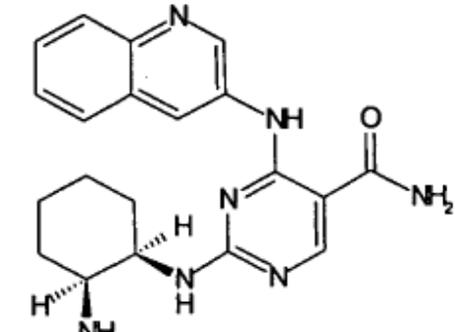
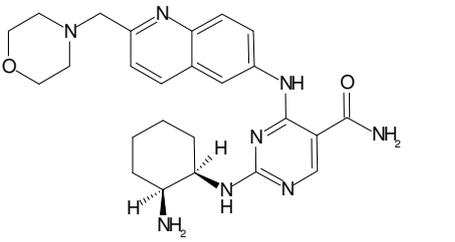
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1099		384,47	385,1		+
1100		400,47	406,1		+
1101		377,45	378,34		+++
1102					+

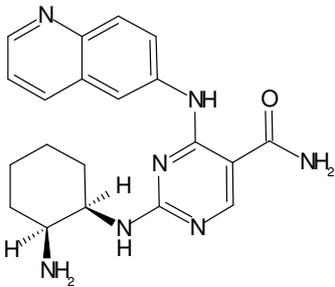
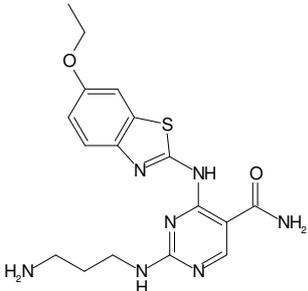
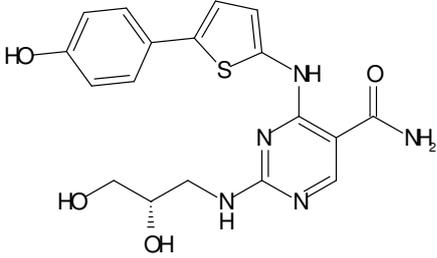
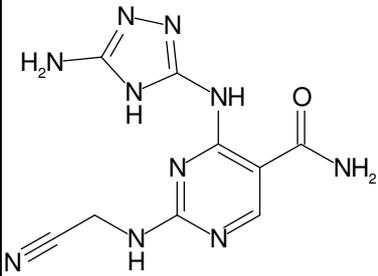
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1103		377,45	378,34 (M+1)		+
1104		476,59	477,40 (M+1)		+++
1105					
1106		337,39	338,27 (M+1)		+

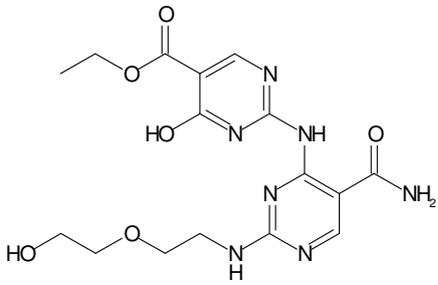
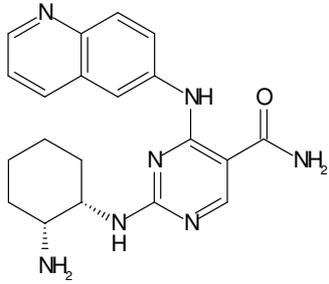
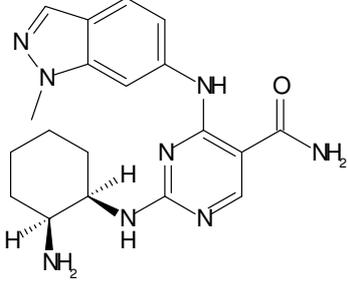
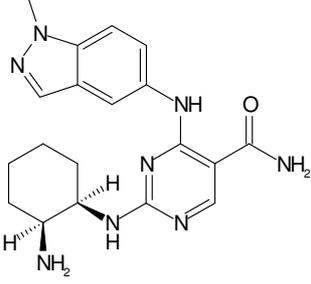
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1107		337,39	338,23 (M+1)		+++
1108		450,5	451,35 (M+1)		+++
1109		406,39	407,28 (M+1)		+
1110		395,39	396,27 (M+1)		++

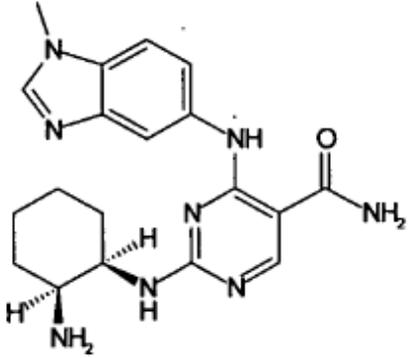
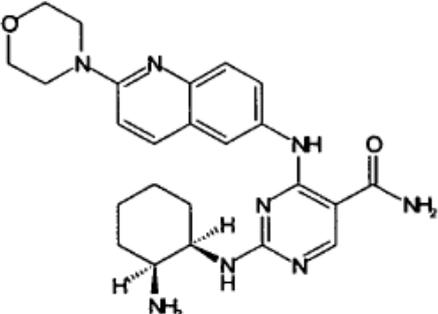
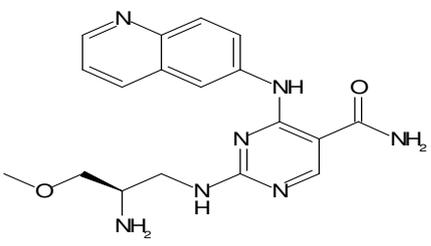
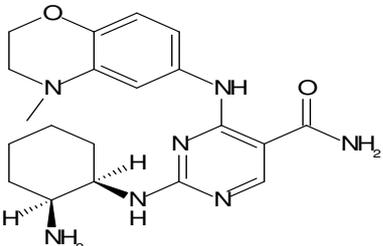
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1111		381,44	382,35 (M+1)		+++
1112		439,52	440,38 (M+1)		++
1113		397,44	398,31 (M+1)		+++
1114		409,49	410,36 (M+1)		+++

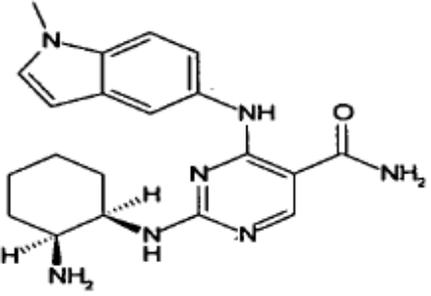
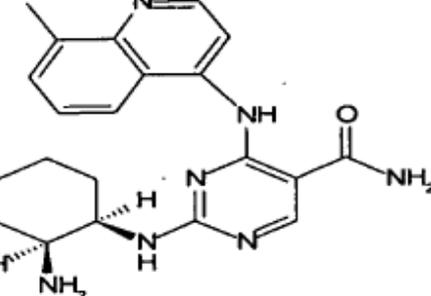
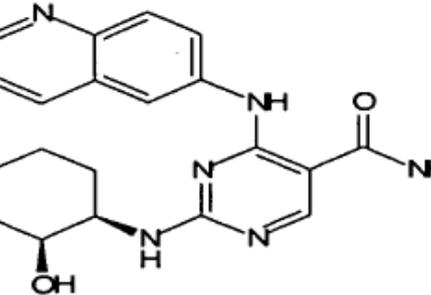
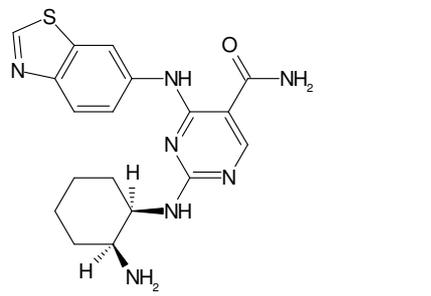
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1115		402,46	403,32 (M+1)		+++
1116		395,47	396,35 (M+1)		++++
1117		393,45	394,14 (M+1)		++++
1118		411,47	412,5 (M+1)		+++

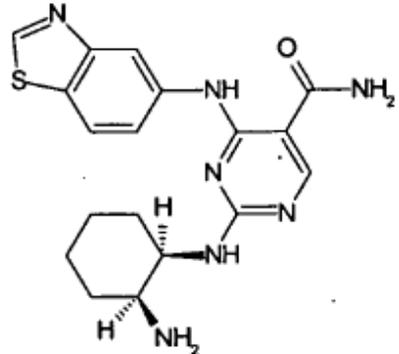
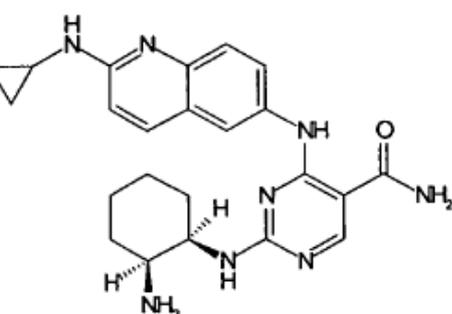
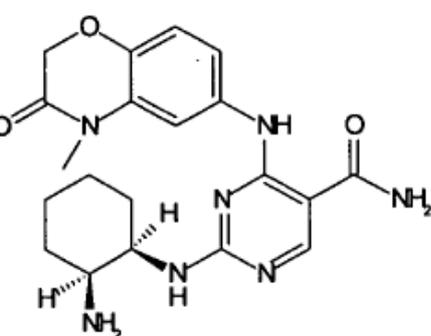
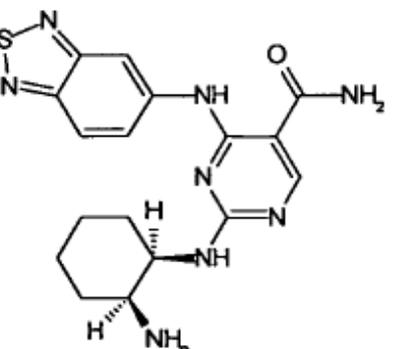
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1119		397,44	398,5 (M+1)		+
1120		407,48	408,6 (M+1)		+++
1121		377,45	378,5 (M+1)		+++
1122		476,59	477,6 (M+1)		+++

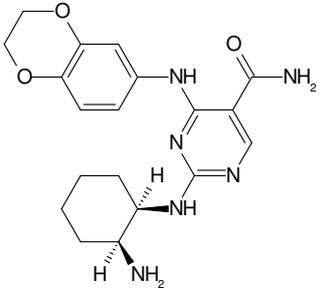
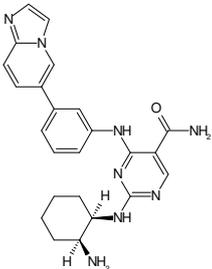
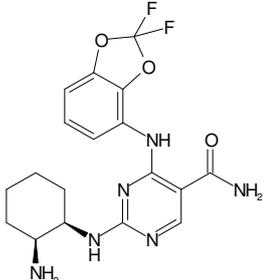
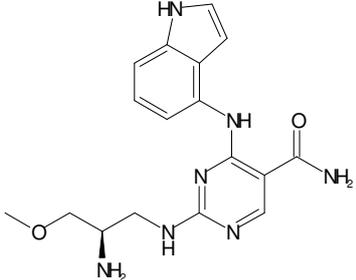
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1123		377,45	378,2 (M+1) 378,5 (M+1) 378,6 (M+1)		++++
1124				259	+
1125		401,45	Turbopul- verización MS [M+1]=402	2462,	+
1126		274,25	MS+ 275		+

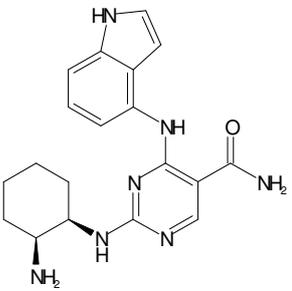
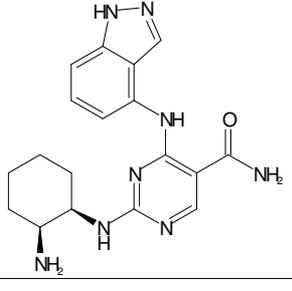
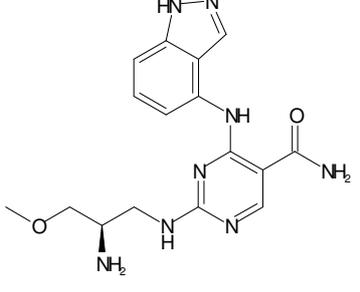
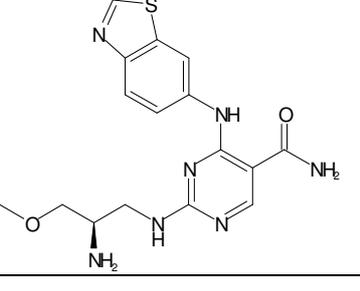
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1127					+
1128		377,45	378,2 (M+1) ES(+) MS [M+1]=378		+
1129		380,46	381,17 (M+1)		++++
1130		380,46	381,17 (M+1)		++++

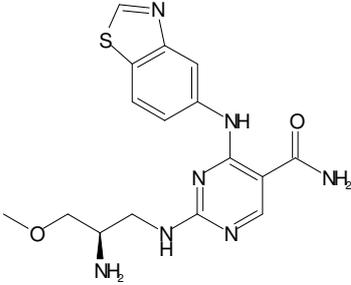
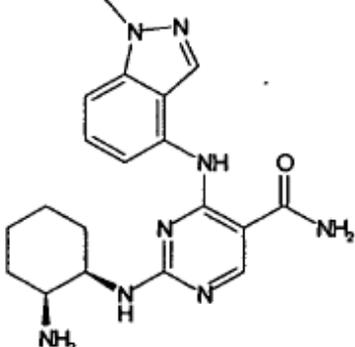
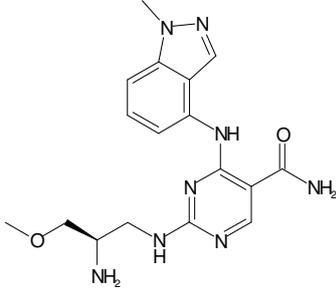
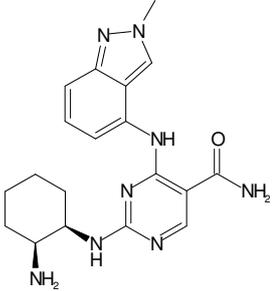
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1131		380,46	381,17 (M+1)		+++
1132		462,56	463,32 (M+1)		+++
1133		367,41	368,16 (M+1)		+++
1134		397,48	398,2 (M+1)		+++

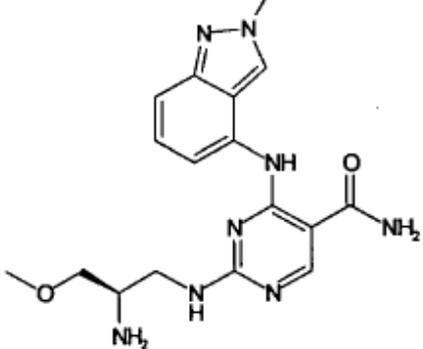
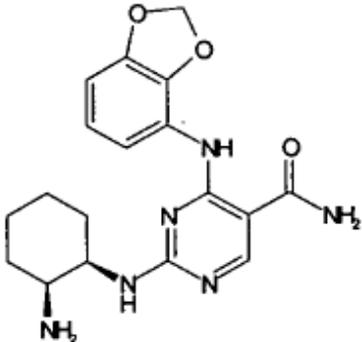
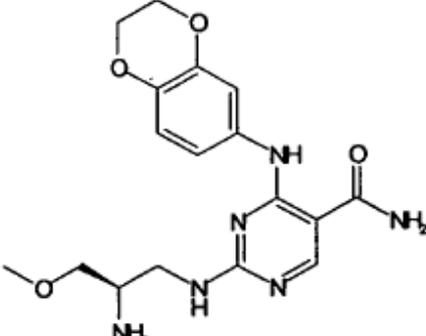
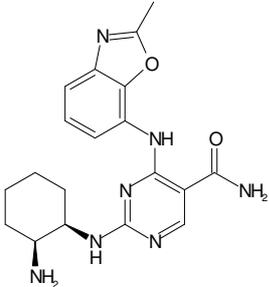
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1135		379,47	380,4 (M+1)		+++
1136		391,48	392,2 (M+1)		+++
1137		378,44	379,1 (M+1)		+
1138		383,48	384,3		++++

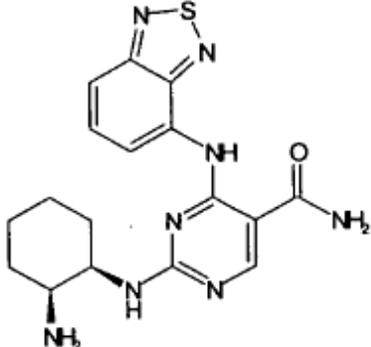
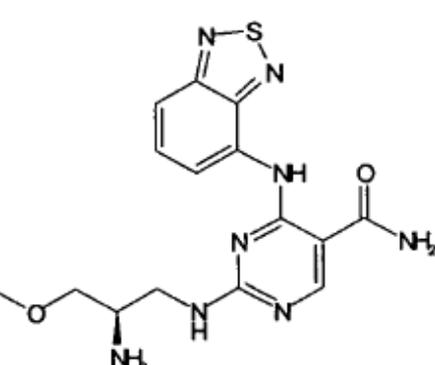
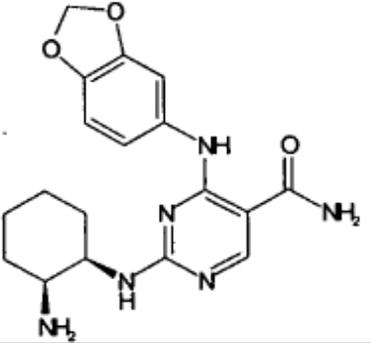
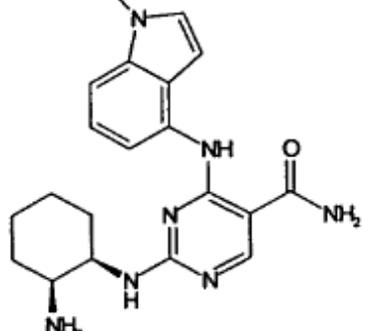
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1139		383,48	384,3		+++
1140		432,53	433,2 (M+1)		++++
1141		411,47	412,2 (M+1)		+
1142		384,47	385,2		+++

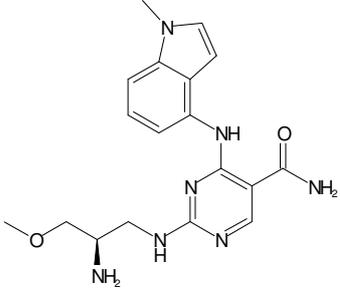
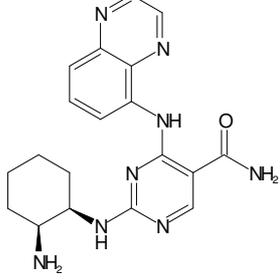
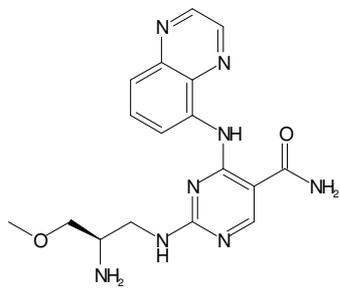
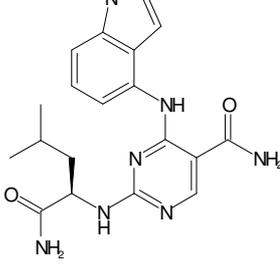
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1143		384,44	385,3		+++
1144					+++
1145					+
1146		355,4	356,4		++++

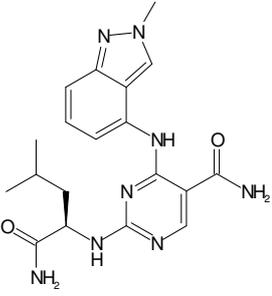
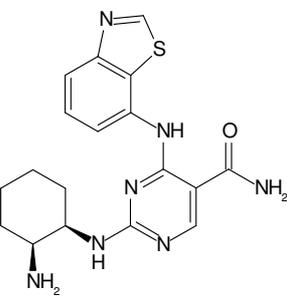
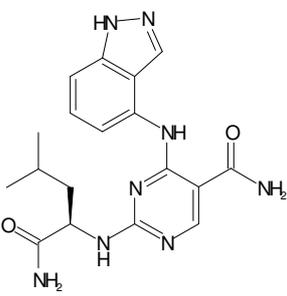
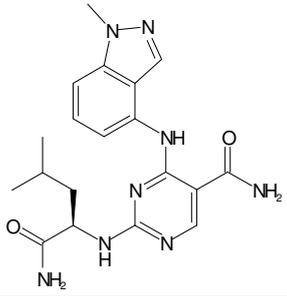
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1147		365,44	366,3, 367,4		+++++
1148		366,43	367,4		++++
1149		356,39	357,3		+++
1150		373,44	374,3		+++

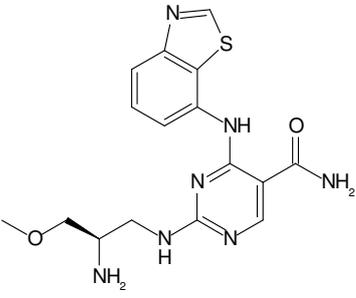
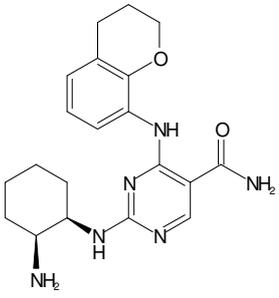
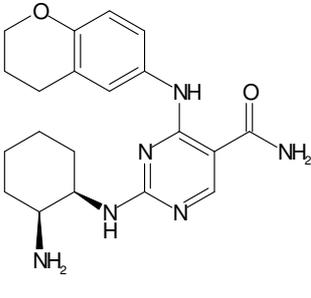
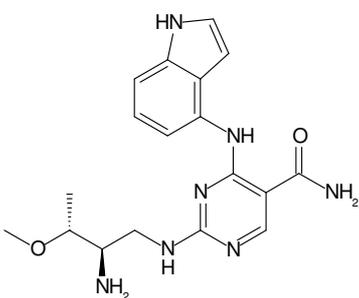
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1151		373,44	374,3		+
1152		380,46	381,3		+++
1153		370,42	371,5		+++
1154		380,46	381,5		++++

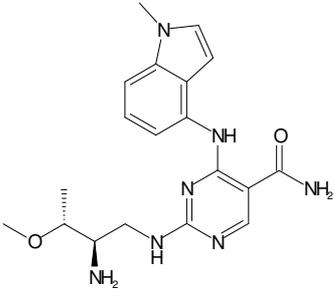
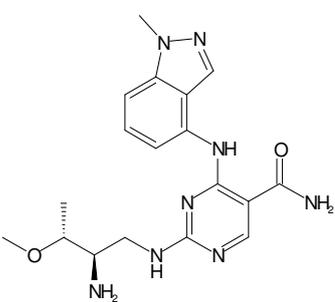
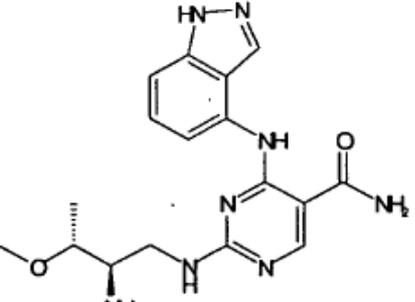
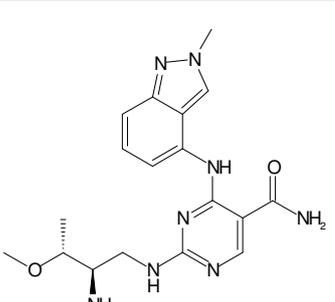
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1155		370,42	371,3		++++
1156		370,41	ES (+) MS [M+1]=371	244	+++
1157		374,4	375,3		+
1158		381,44	382,4		+

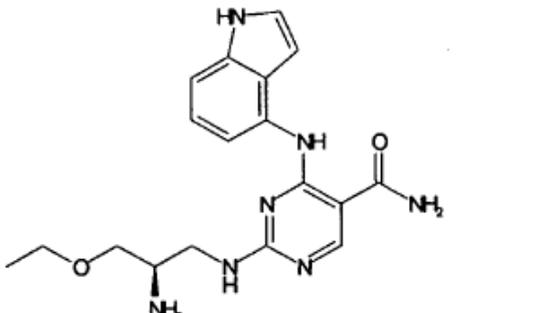
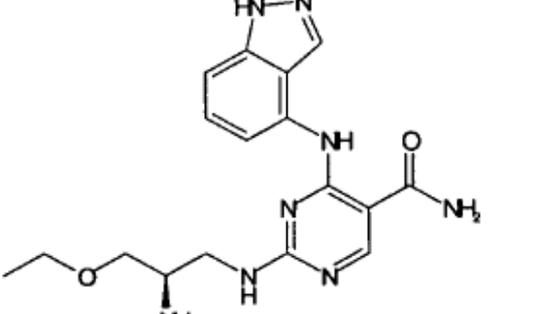
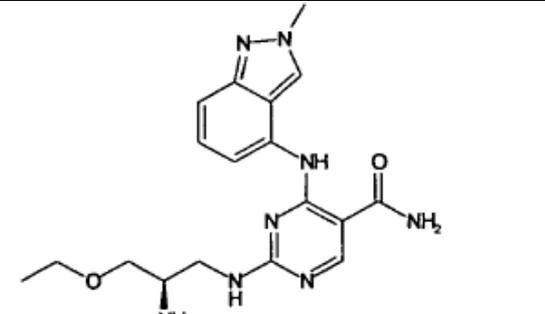
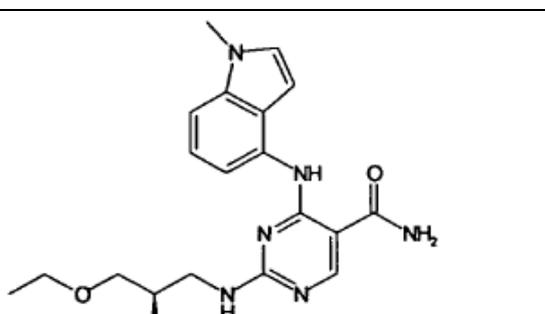
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1159		384,47	385,3		+++
1160		374,43	375,2		+
1161		370,41	ES(+) MS [M+1]=371	237, 253	+++
1162		379,47	380,4		++++

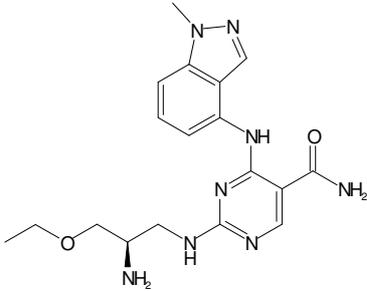
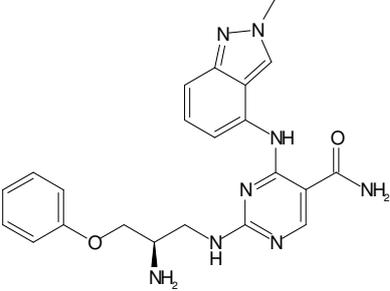
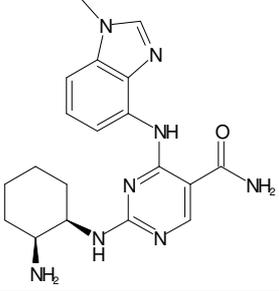
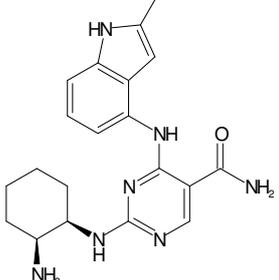
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1163		369,43	370,4		++++
1164		378,44	379,3		+++
1165		368,4	369,2, 370,1		+
1166		395,47	396,3		+++

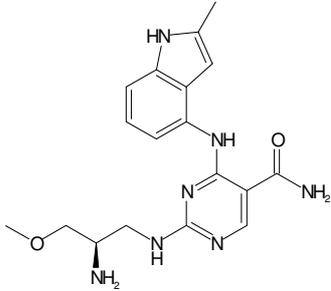
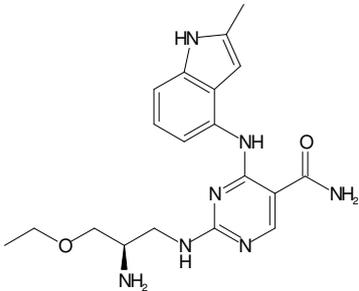
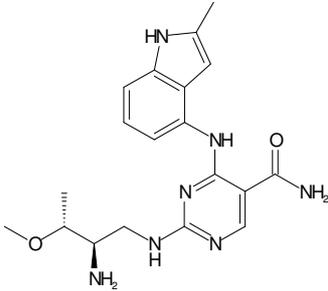
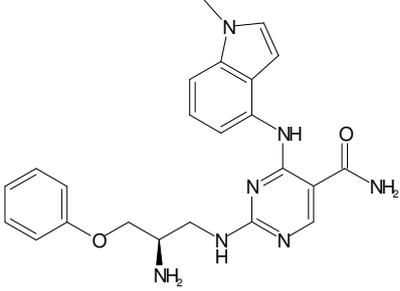
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1167		396,46	397,4		+++
1168		383,48	384,3		+++
1169		382,43	383,4, 384,3		+
1170		396,46	397,4		+

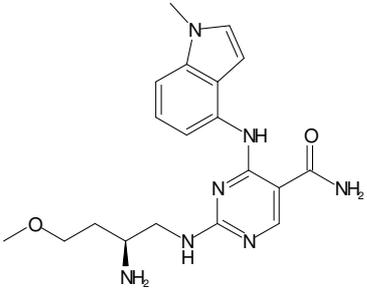
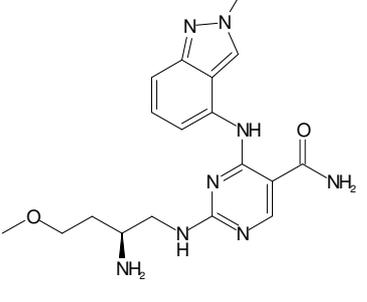
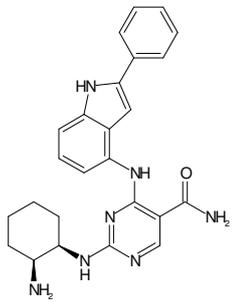
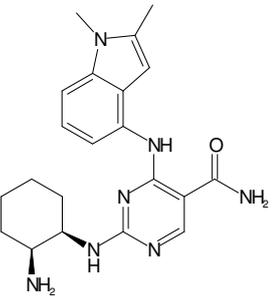
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1171		373,44	374,3		+
1172		382,47	MS: 383,2 (M+H)		+
1173		382,47	MS: 383,3 (M+H)		+++
1174		369,43	370,4		+++

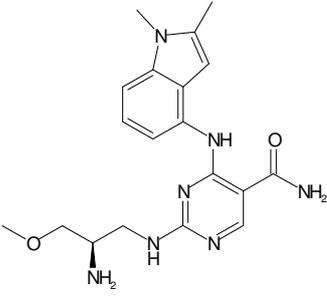
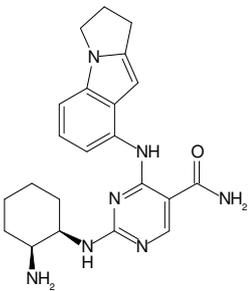
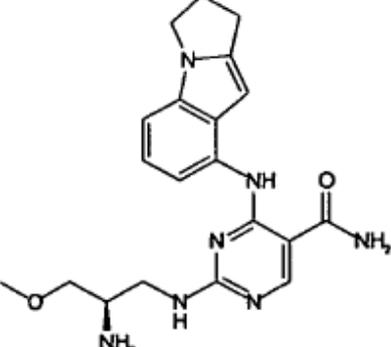
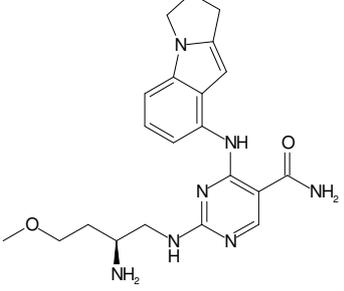
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1175		383,46	384 384,3		++++
1176		384,44	385,3		+
1177		370,42	371,4		+++
1178		384,44	385,3, 386,4		+++

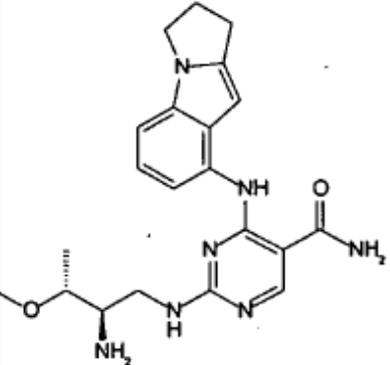
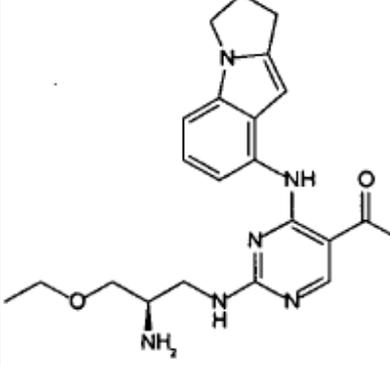
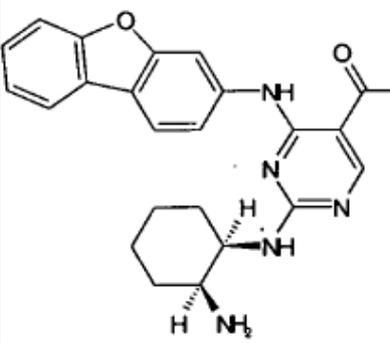
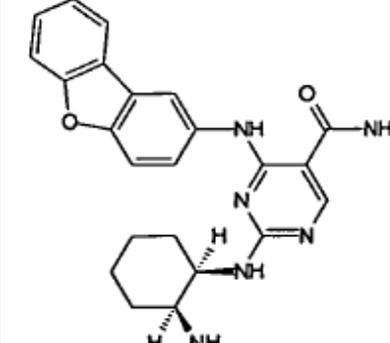
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1179		369,43	370,3		++++
1180		370,42	371,3		+++
1181		384,44	385,4		+++
1182		383,46	384,3		++++

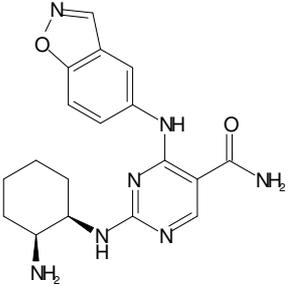
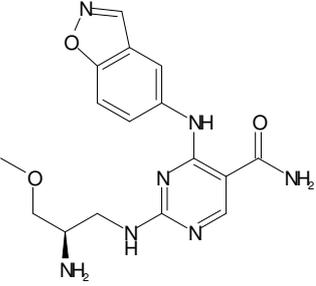
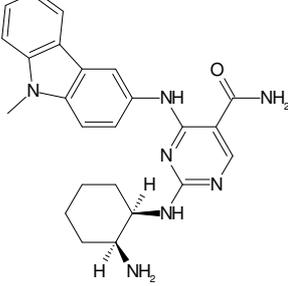
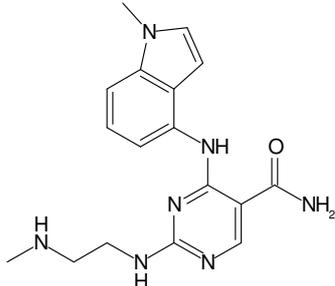
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1183		384,44	385,3		+++
1184		432,49	433,4		+++
1185		380,46	381,4		+
1186		379,47	380,4		++++

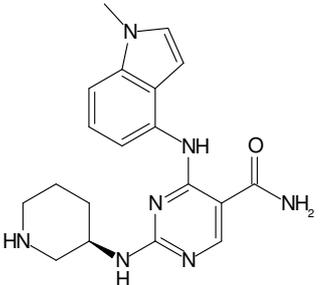
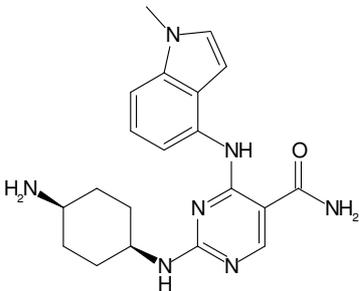
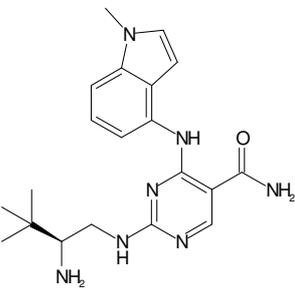
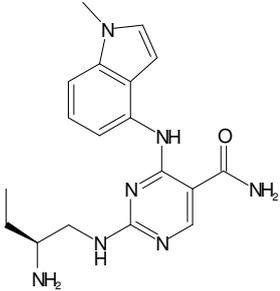
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1187		369,43	370,4		+++
1188		383,46	384,4		+++
1189		383,46	384,4		+++
1190		431,5	432,4		+++

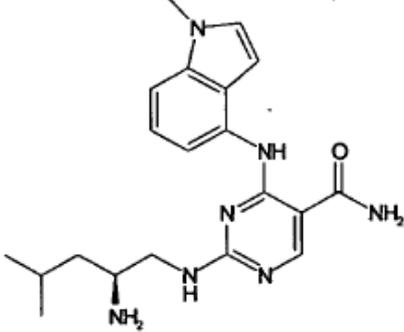
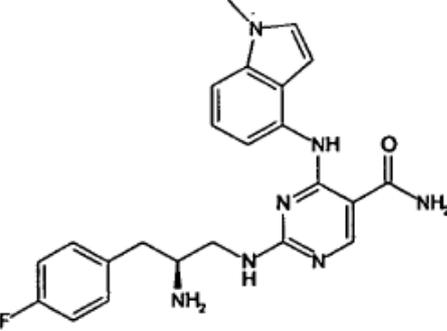
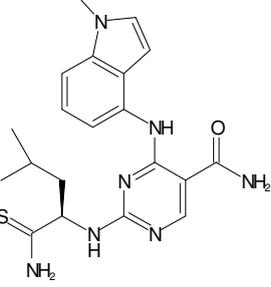
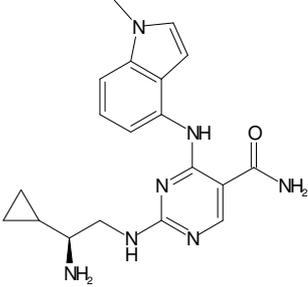
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1191		383,46	384,4		++++
1192		384,44	385,4		+++
1193		441,54	442,5		+
1194		393,5	394,4		+++

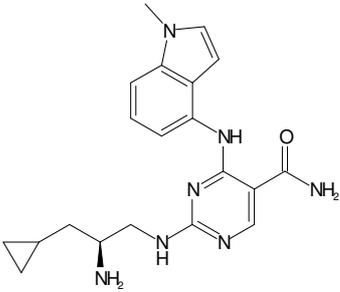
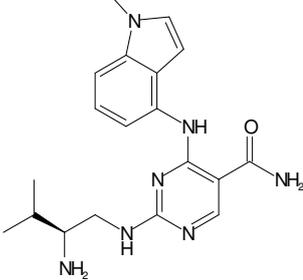
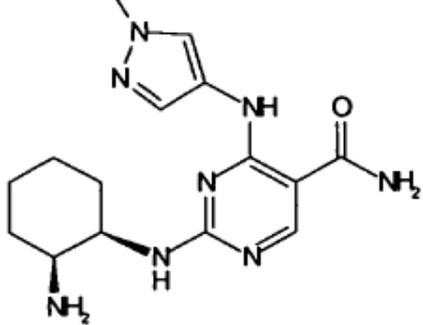
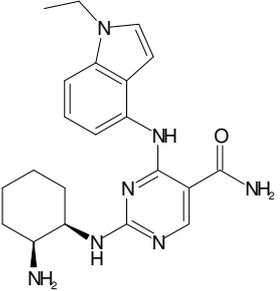
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1195		383,46	384,4		+++
1196		405,51	406,5		++++
1197		395,47	396,4		++++
1198		409,49	410,4		+++

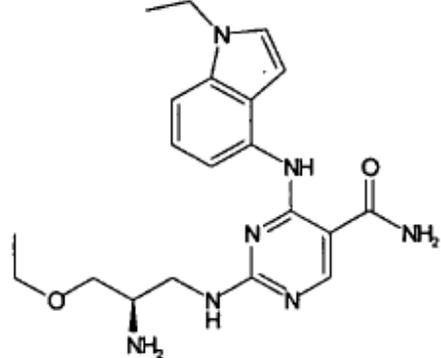
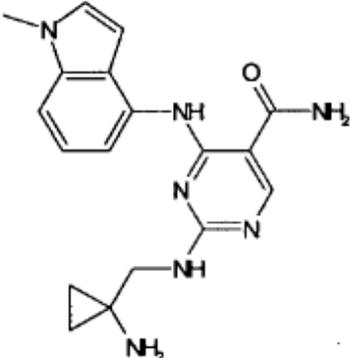
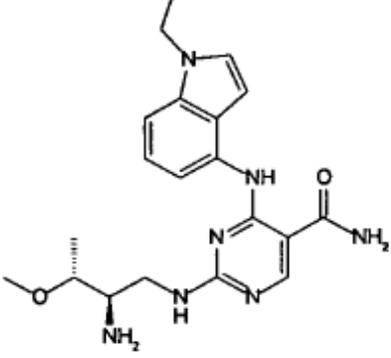
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1199		409,49	410,4		+++
1200		409,49	410,4		+++
1201		416,49	417,4		+++
1202		416,49	417,3		+++

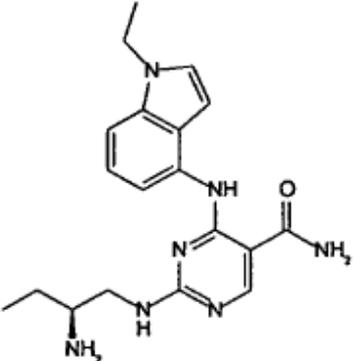
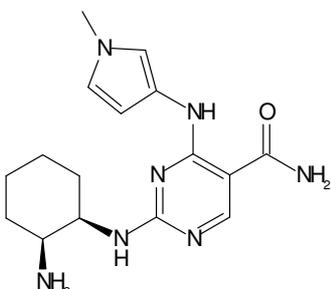
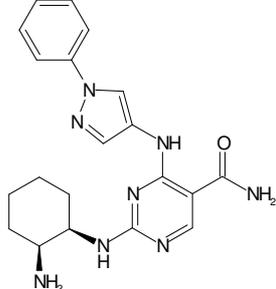
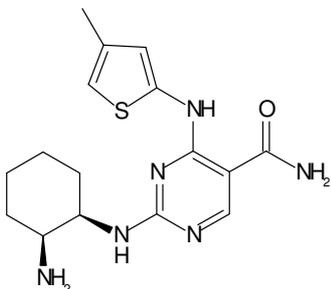
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1203		367,41	368,4		+++
1204		357,37	358,3		+
1205		429,53	430,3		+++
1206		339,4	340,4		+

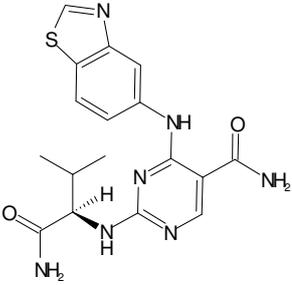
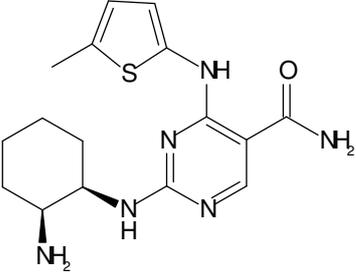
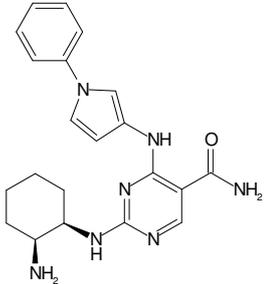
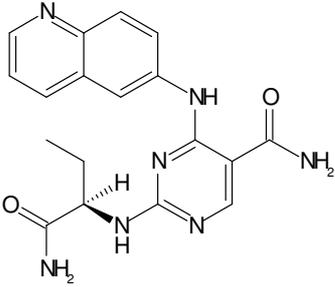
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1207		365,44	366,4		+
1208		379,47	380,4		+
1209		381,48	382,4, 383,5		+++
1210		353,43	354,4		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1211		381,48	382,4		+++
1212		433,49	434,5		+
1213		411,53	412,4		+
1214		365,44	366,4		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1215		379,47	9 mg		++++
1216		367,46	368,4		++++
1217		330,4	331,4		+
1218		393,5	394,4		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1219		397,48	398,4		++++
1220		351,41	352,3		++++
1221		397,48	398,4		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1222		367,46	368,4		++++
1223		329,41	330,3		+
1224		392,47	393,4		+++
1225		346,46	347,3		++++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1226		385,45	386,4		+
1227		346,46	347,3		+++
1228		391,48	392,4		+++
1229		365,4	366,2		+++

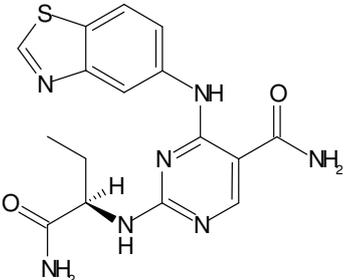
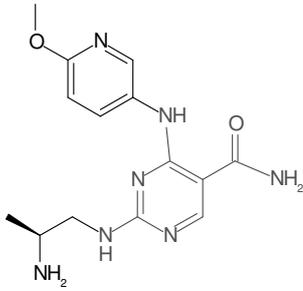
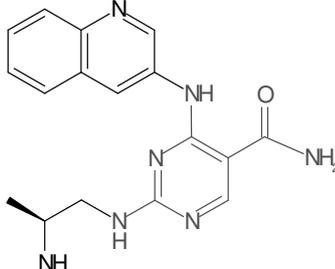
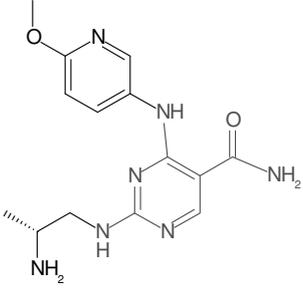
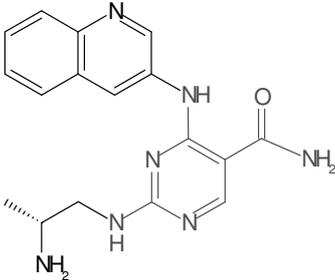
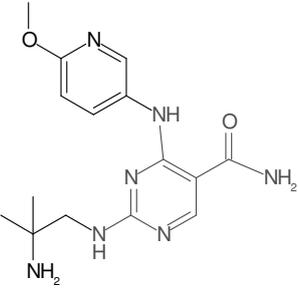
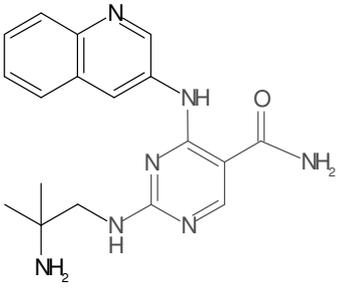
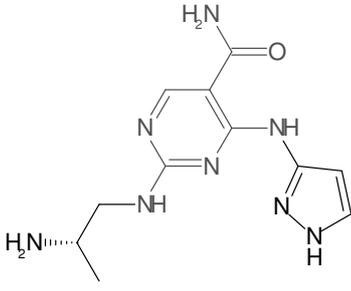
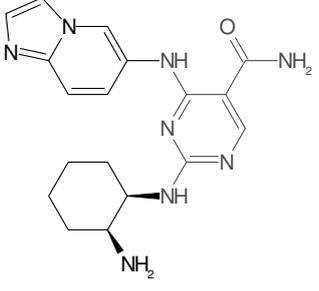
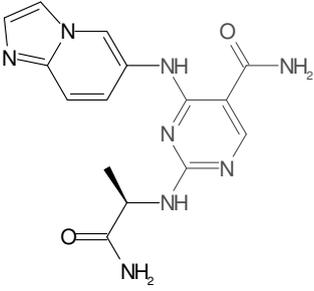
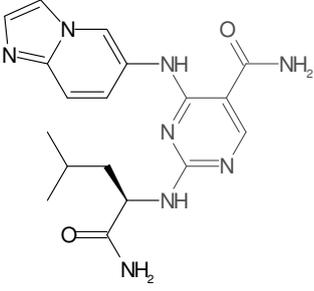
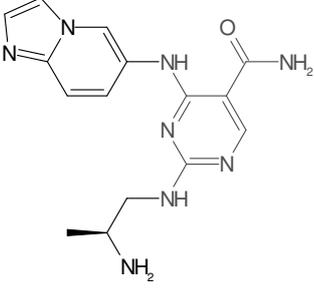
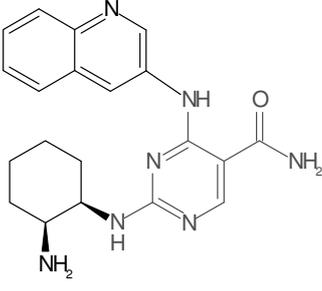
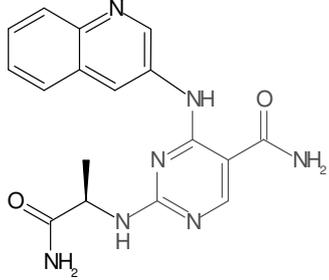
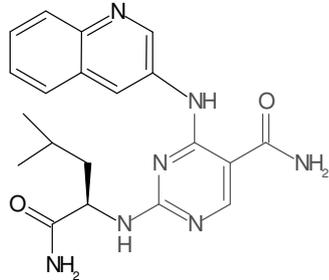
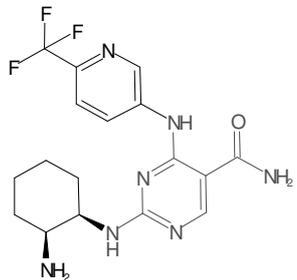
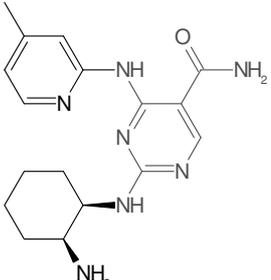
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	UV	Código CI50 de Syk
1230		371,42	372,4		+

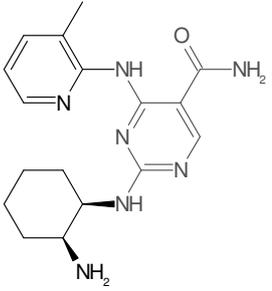
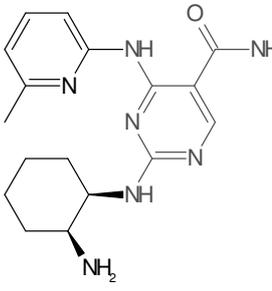
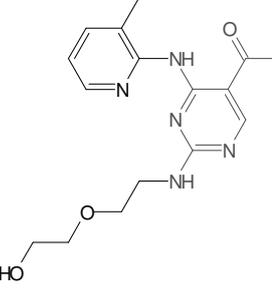
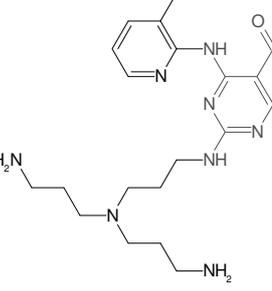
FIG. 7A

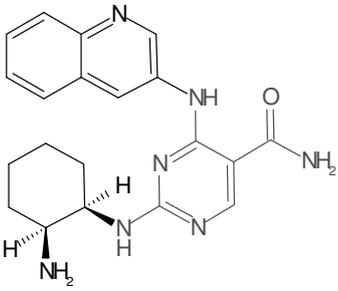
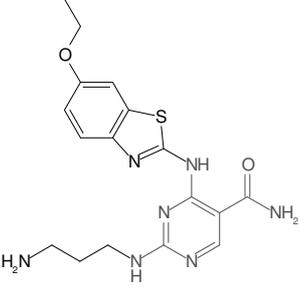
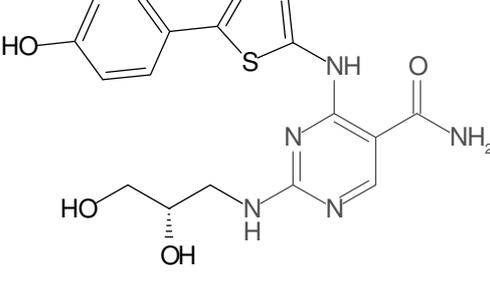
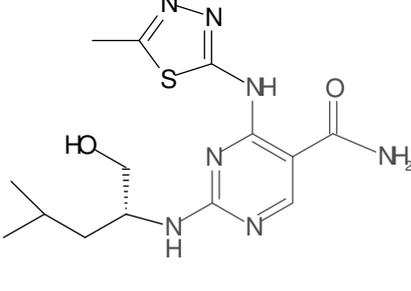
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1231		317,353		+
1232		337,387	338,2 (M+1)	+++
1233		317,353		+
1234		337,387		+

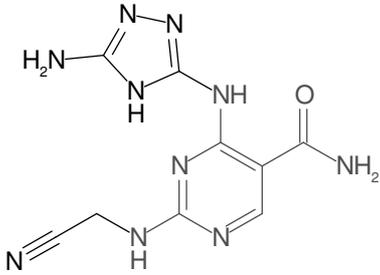
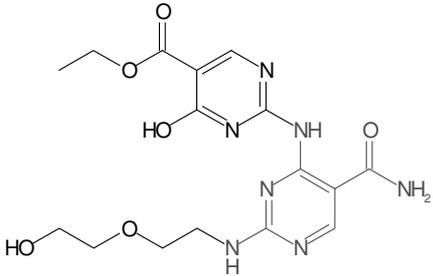
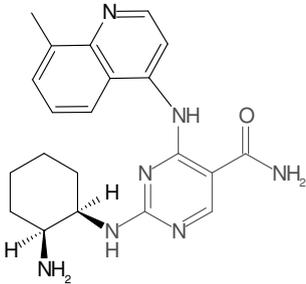
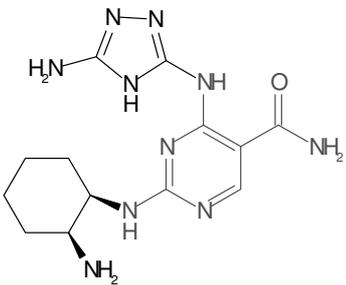
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1235		331,38		+
1236		351,414		+
1237		276,304		+
1238		366,429	367,1	+++

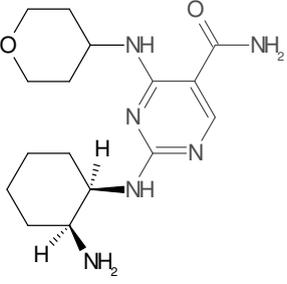
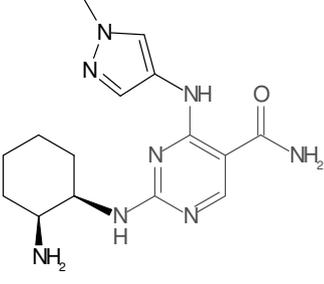
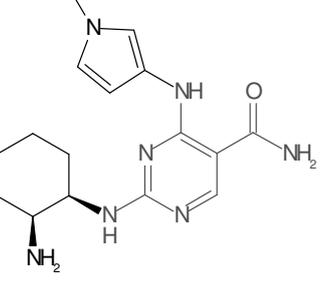
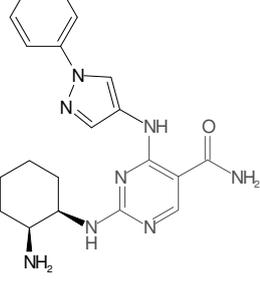
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1239		340,347	341,1	++
1240		382,428	383,1	+++
1241		326,364	327,1	++
1242		377,452	378,2 (M+1)	+++

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1243		351,37	352,1 (M+1)	+++
1244		393,451	394,2 (M+1)	+++
1245		395,389	396,27 (M+1)	++
1246		341,419	342,2	+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1247		341,419	342,2	+
1248		341,419	342,1	+
1249		332,364	333,1	+
1250		415,546	416,1	+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1251		377,452	378,5 (M+1)	+++
1252		387,466	Turbopulverización MS [M+1]=388	+
1253		401,445	Turbopulverización MS [M+1]=402	++
1254		351,433	MS+ 352	+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1255		274,248	MS+ 275	++
1256		407,387	MS+ 408	+
1257		391,479	392,2 (M+1)	+++
1258		332,372	MS+ 333	+

Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1259		334,424	335,3	+
1260		330,396	331,4	++
1261		329,408	330,3	++
1262		392,467	393,4	+++

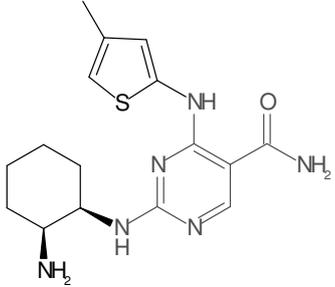
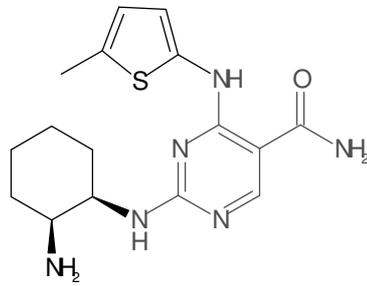
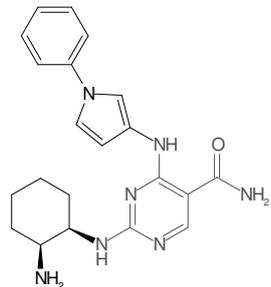
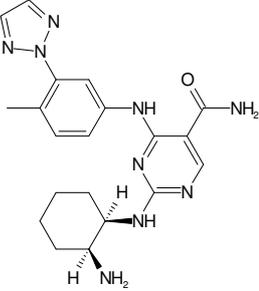
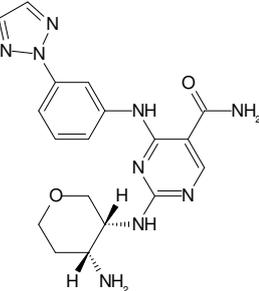
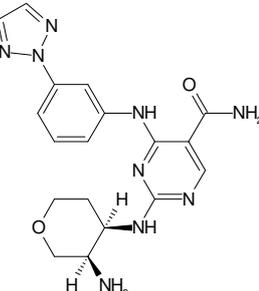
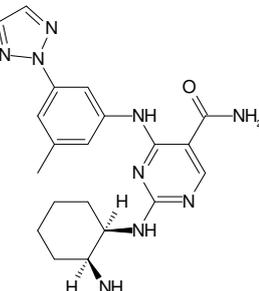
Ejemplo N.º	Estructura	PM	MH+	Código de CI50 de Syk
1263		346,457	347,3	++++
1264		346,457	347,3	+++
1265		391,479	392,4	+++

FIG. 7B

Ejemplo N.º	Estructura	Código CI50 de Syk
1266		++++
1267		+
1268		+++
1269		++++

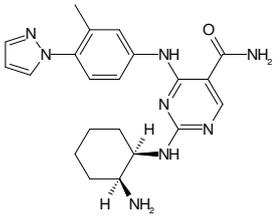
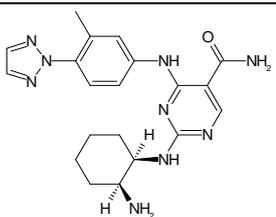
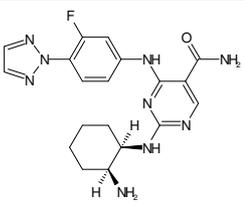
Ejemplo N.º	Estructura	Código CI50 de Syk
1270		++
1271		+++
1272		+++

FIG. 9

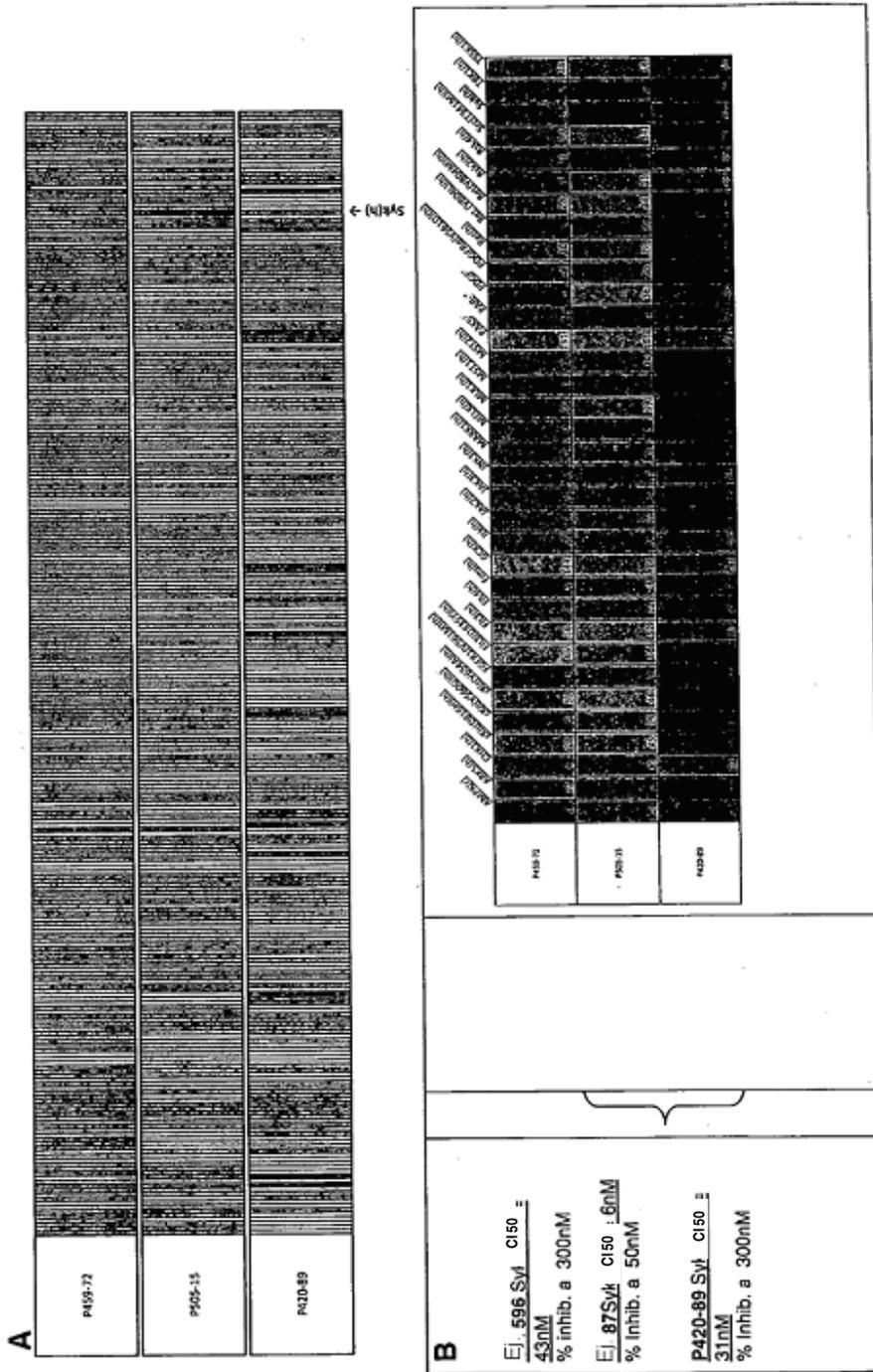




FIG. 9C

FIG. 10

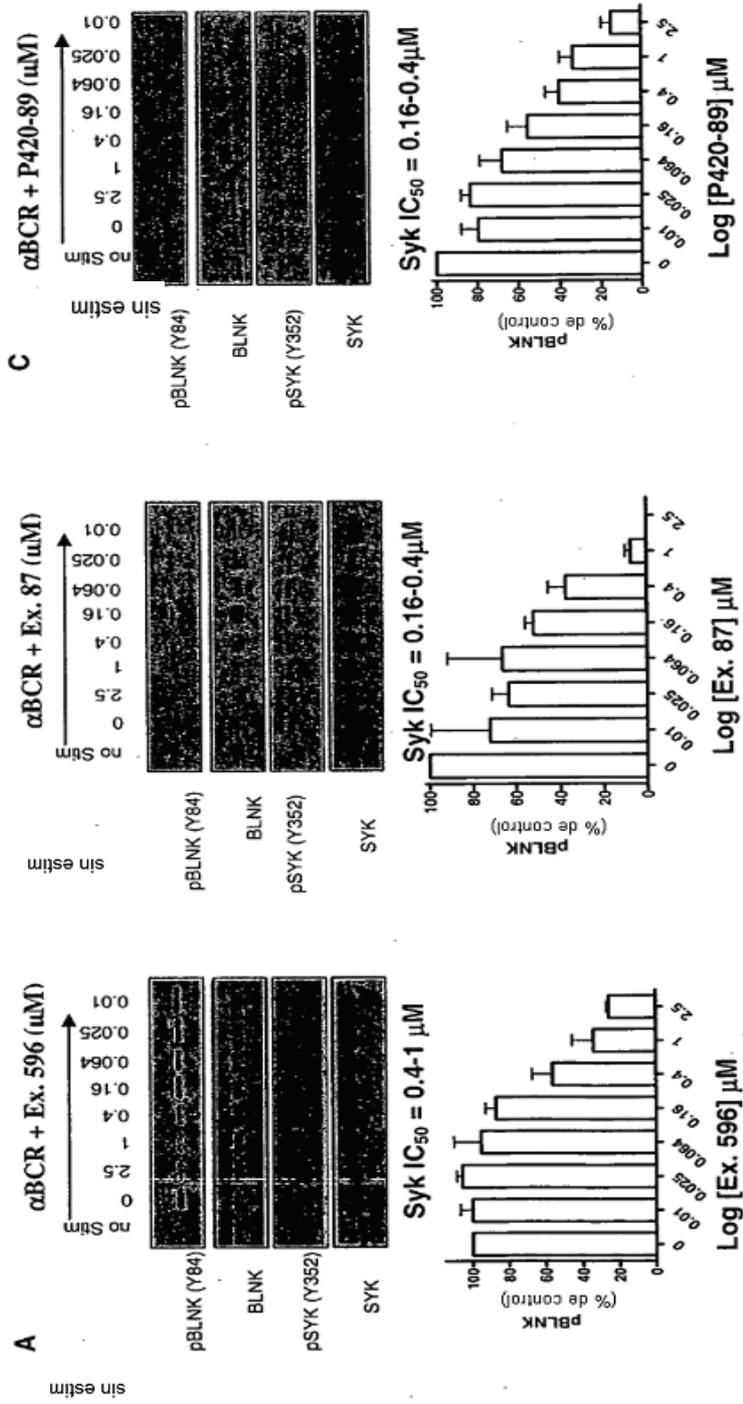


FIG. 11

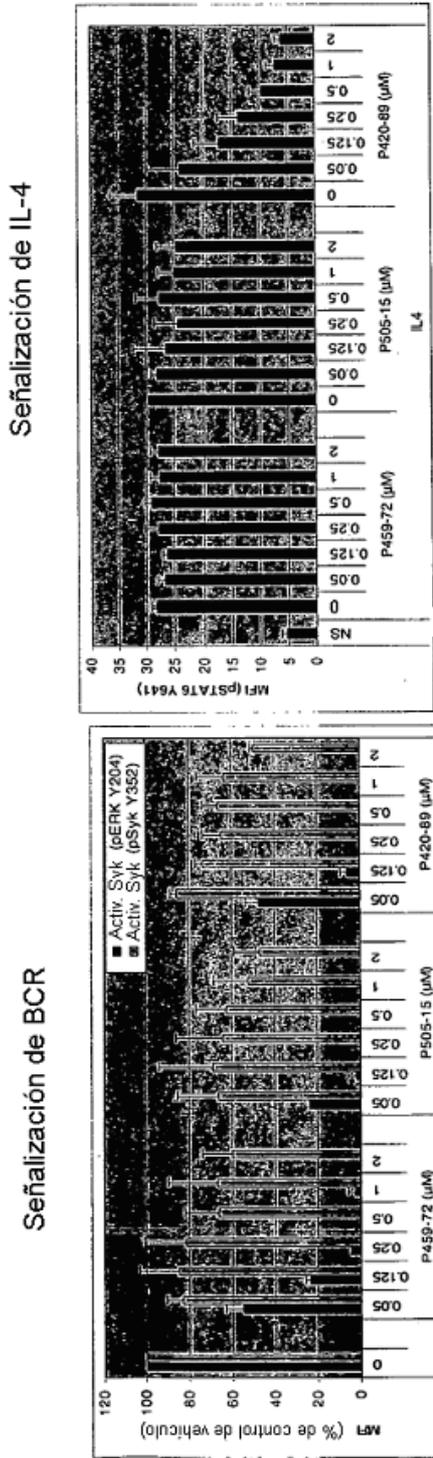


FIG. 12

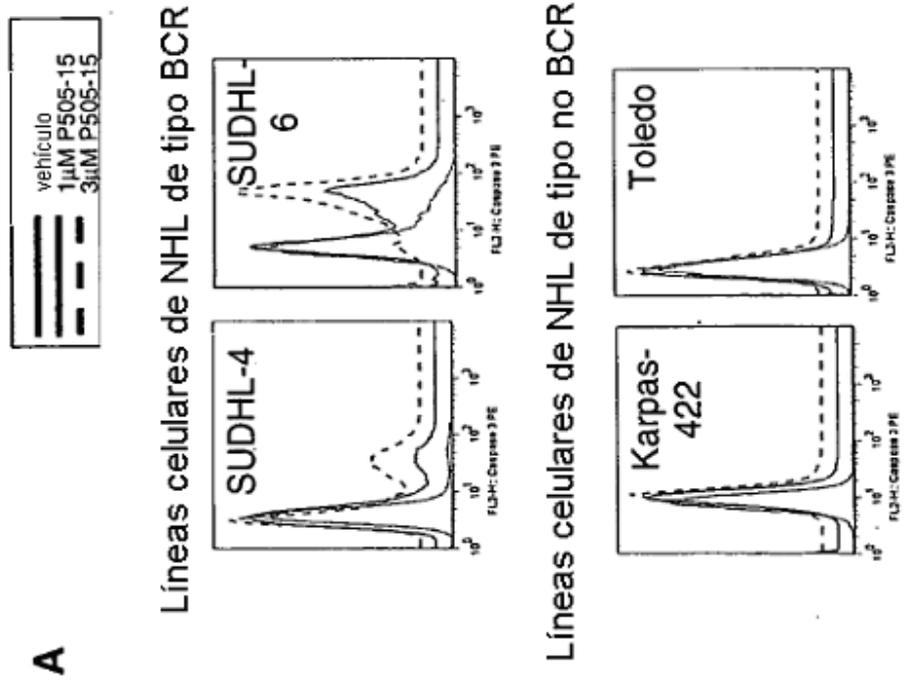
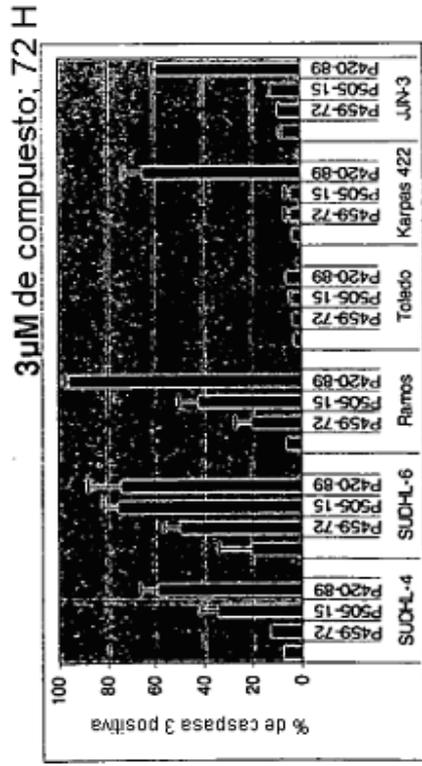


FIG. 12 (cont.)

B



C

	CI50 (μM) media + DE	
Compuesto	SUDHL-SUDHL-	Toledo
	4	6
Ejemplo 596(Syk)	5.4 ± 1.8	2.6 ± 1.4
Ejemplo 87(Syk)	1.8 ± 0.7	1.1 ± 0.4
Ejemplo x (Syk/JAK)	1.8 ± 0.6	9.3 ± 4.0
		9.3 ± 5.4

FIG. 13

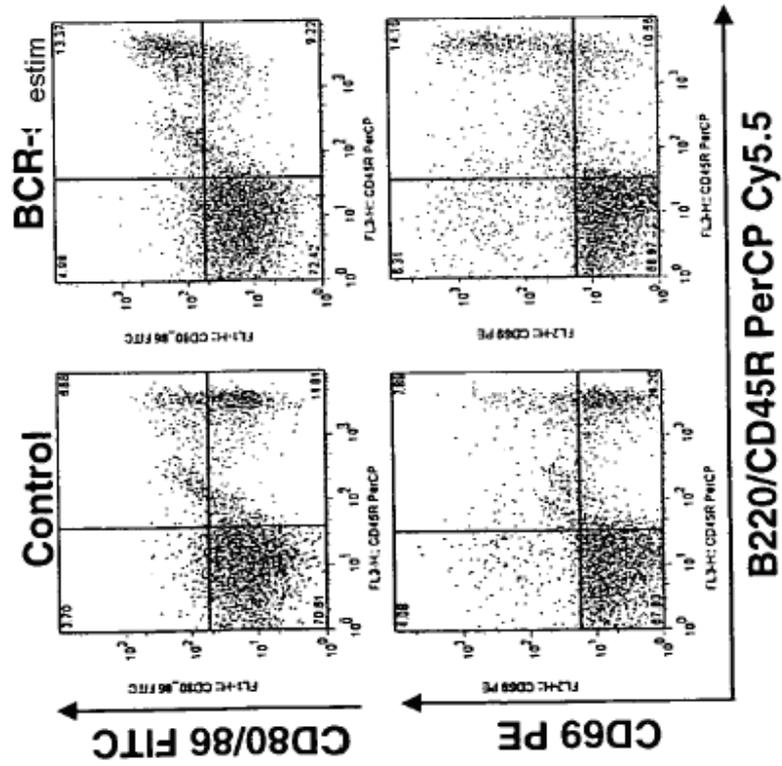


FIG. 13 (cont.)

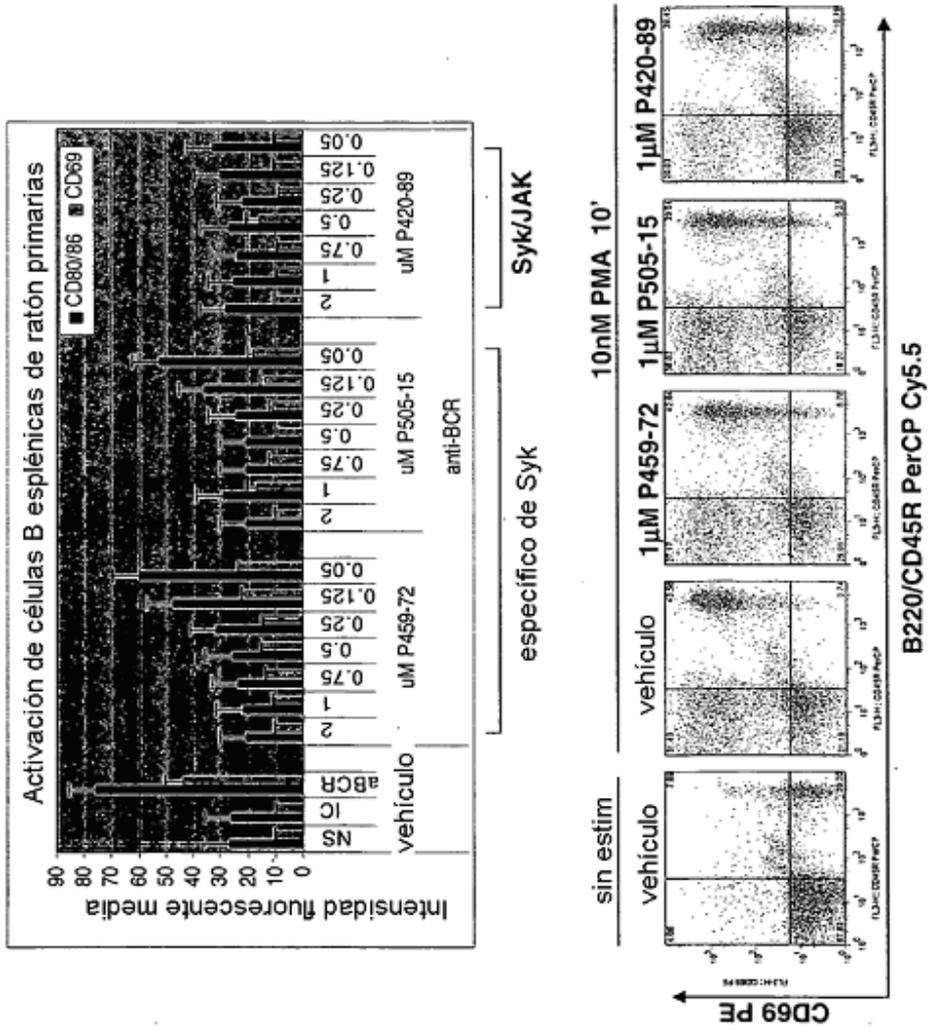
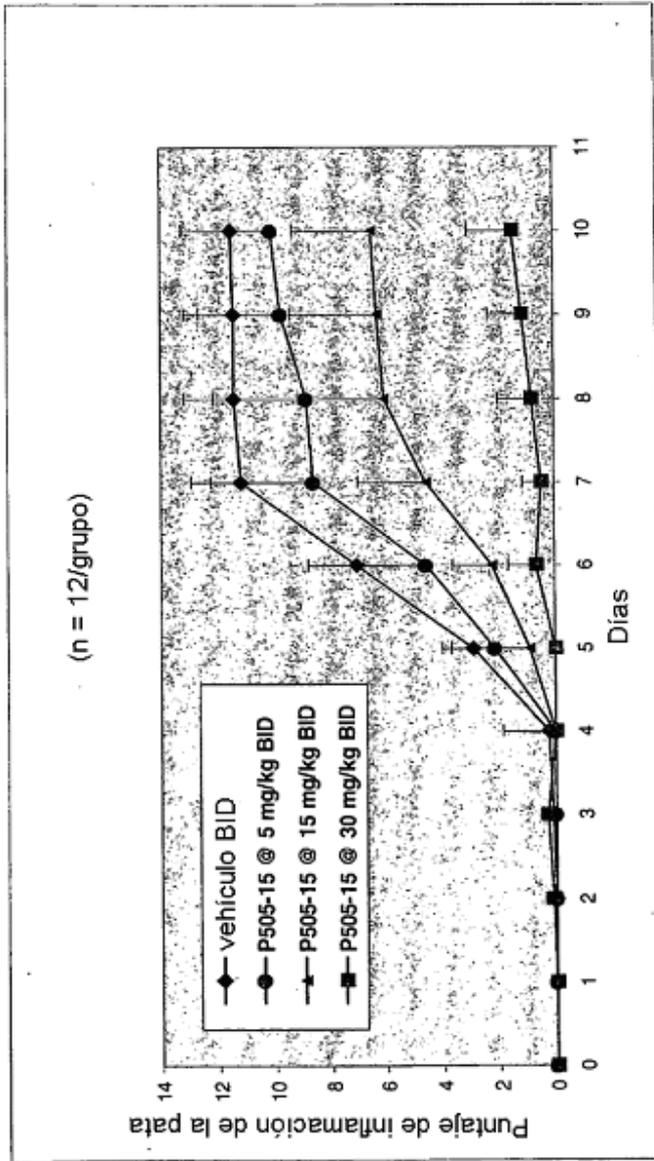


FIG. 14



- La dosis de 15 y 30 mg/kg mostró una reducción estadísticamente significativa en los puntajes de inflamación a partir del d5 a d10 con 44% y 87% de inhibición, respectivamente.
- Las concentraciones en plasma para las dosis de 5, 15 y 30 mg/kg eran de 66, 140 y 112 nM en la parte inferior y de 0,8, 1,9 y 2,7 mM en el pico, respectivamente.

FIG. 15

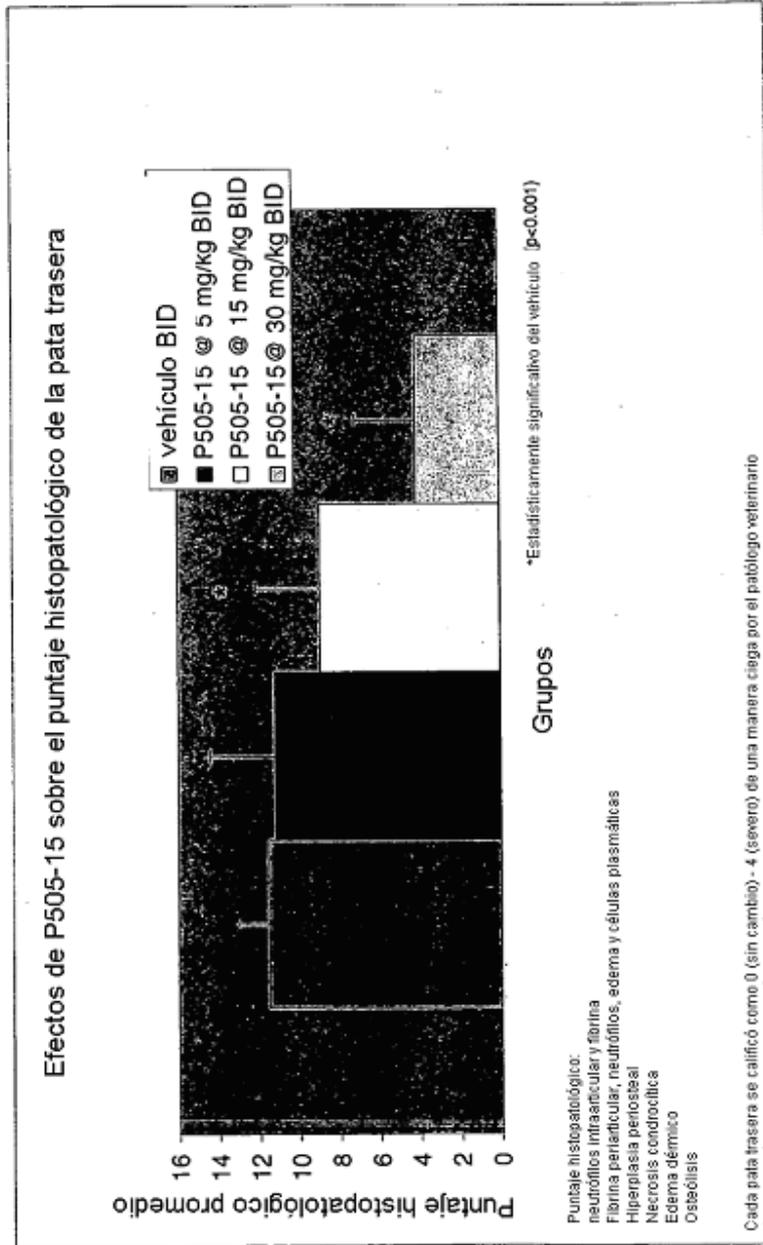
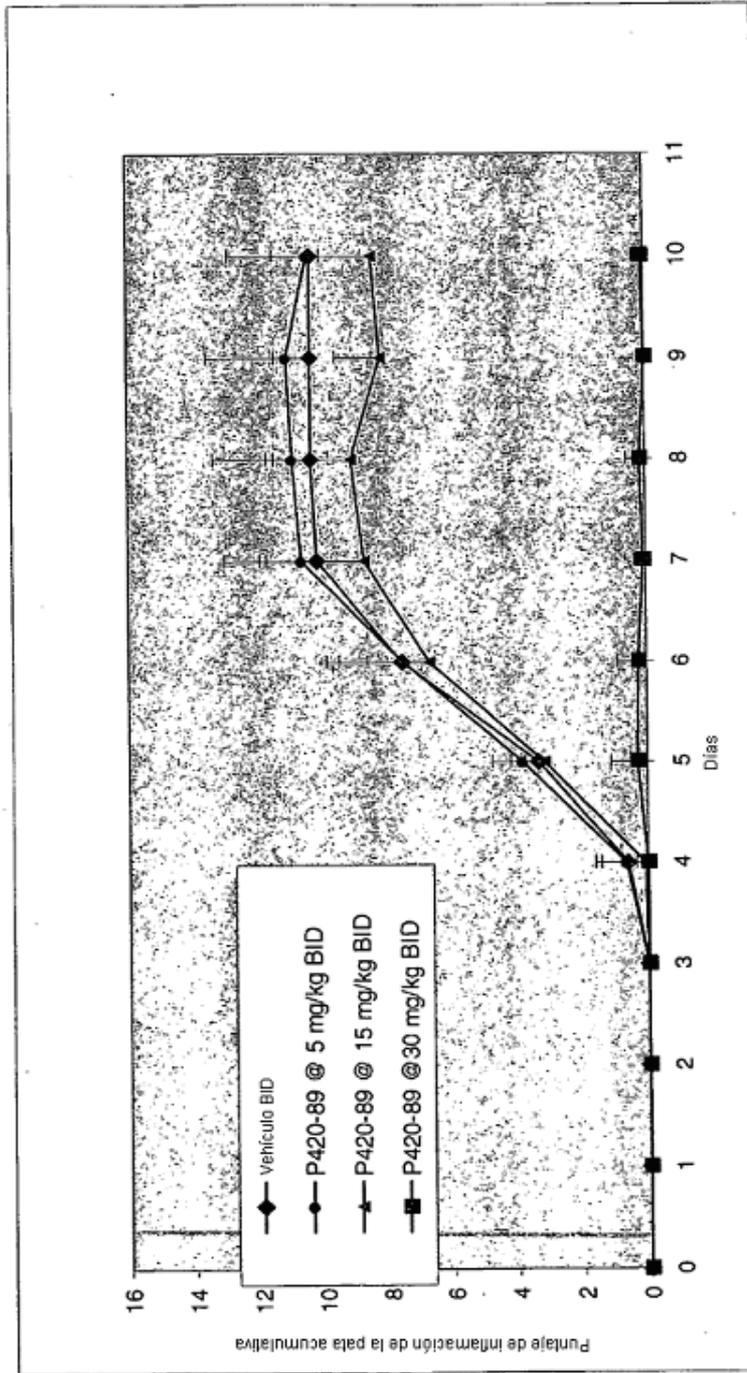
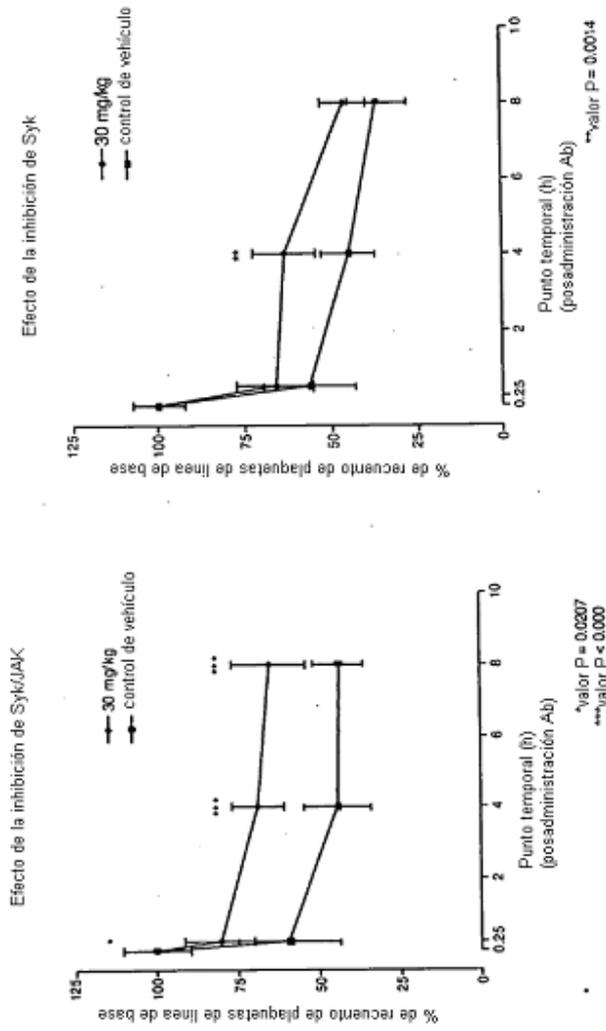


FIG. 16



- Dosis de 30 mg/kg BID de d4-d10 era estadísticamente inferior ($p < 0,00001$) en comparación con vehículo con el 99% de inhibición.
- Dosis de 15 mg/kg era estadísticamente inferior ($p < 0,05$) del día 9-10 con el 19% de inhibición.
- Las concentraciones en plasma para las dosis de 5, 15 y 30 mg/kg de dosis eran de 0, 2 y 11 nM en la base y de 0,27, 1,4 y 2,9 mM en el pico, respectivamente.

FIG. 17



	0 Hr	0.25 Hr	4 Hr	8 Hr
Punto temporal (posAb)	12	7	10	10
N (por dosis, por punto temporal)	N/A	N/A	0.752 ± 0.427 uM	0.142 ± 0.134 uM
P420-89 (concentración en plasma)	N/A	5.36 ± 2.04 uM	1.88 ± 0.619 uM	0.949 ± 0.404 uM
P505-15 (concentración en plasma)	N/A	3.50 ± 1.11 uM		

