

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 271**

51 Int. Cl.:

A61K 31/437 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

A61K 31/424 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2011 E 11791146 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2646445**

54 Título: **Compuestos de oxazolo[5,4-b]piridin-5-ilo y su uso en el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

03.12.2010 EP 10382329

03.02.2011 US 201161439151 P

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

21.04.2016

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)

**Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

COATES, DAVID ANDREW;

GILMOUR, RAYMOND;

MARTÍN, JOSÉ ALFREDO y

MARTÍN DE LA NAVA, EVA MARÍA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 567 271 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

Compuestos de oxazolo[5,4-b]piridin-5-ilo y su uso en el tratamiento del cáncer

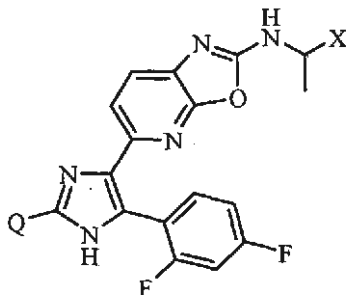
La cinasa MAP p38 es una cinasa de proteína activada por mitógenos (MAP) que pertenece a la superfamilia de cinasas de serina / treonina. Esta cinasa es activada por estreses extracelulares tales como el calor, la luz UV y el estrés osmótico, así como por estímulos inflamatorios tales como lipopolisacáridos. Cuando es activada, la cinasa MAP p38 fosforila sustratos de proteínas intracelulares que regulan la biosíntesis de las citocinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8). Estas citocinas están implicadas en la patología de numerosos trastornos inflamatorios crónicos. La inflamación crónica es un factor de riesgo clave para el desarrollo de cáncer. Por ejemplo, la ruta de la cinasa MAP p38 es un objetivo del virus herpes asociado al Sarcoma de Kaposi (KSHV) que da como resultado una inflamación crónica y el desarrollo de sarcoma. Además, las citocinas reguladas por la cinasa MAP p38, tales como la IL-8, se han implicado en la impulsión de la angiogénesis relacionada con el crecimiento tumoral. La forma fosforilada de la cinasa de proteína activada por mitógenos-cinasa de proteína 2 (o pMAPKAPK2) también es una cinasa de la ruta de la cinasa MAP p38 y puede ser activada directamente por la cinasa MAP p38. Los estudios en ratones con el gen de la MAPKAPK2 inactivado muestran una reducción en la producción de citocinas que sugiere que la MAPKAPK2 puede ser un regulador clave de la respuesta inflamatoria y también puede ser un potencial objetivo para una terapia antiinflamatoria y/o antineoplásica (documento WO2005120509).

En la materia se han divulgado inhibidores de la cinasa MAP p38 de azabenzotiazolilo (por ejemplo, en el documento WO2007016392) para el tratamiento de enfermedades antiinflamatorias. Adicionalmente, en la materia se han divulgado inhibidores de la cinasa MAP p38 de azabencimidazolilo (por ejemplo, en el documento WO2005075478) para el tratamiento del cáncer. Además, el documento WO200917822 desvela imidazolil oxazoles y oxazolo[4,5-b]piridina-6-ilos útiles como inhibidores de la cinasa PI3, y el documento WO2004014900 desvela bencimidazoles y benzotiazoles como inhibidores de la cinasa MAP.

Sin embargo, algunos inhibidores de la cinasa MAP p38 o inhibidores de citocinas pueden tener problemas de biodisponibilidad y de absorción que limiten sus efectos *in vivo* y su uso terapéutico. Adicionalmente, algunos inhibidores de la cinasa MAP p38 pueden presentar efectos toxicológicos adversos (especialmente una toxicidad GI) en un paciente y presentan riesgo de interacciones farmacológicas en el paciente. Por lo tanto, existe una necesidad de fármacos supresores de citocinas alternativos. Preferiblemente, dichos compuestos son capaces de inhibir la cinasa MAP p38 con una potencia mejorada y una mayor biodisponibilidad. Preferiblemente, dichos compuestos también presentan un perfil toxicológico mejorado (especialmente la toxicidad GI) y un menor riesgo de interacciones farmacológicas en el paciente.

La presente invención proporciona nuevos compuestos de oxazolo[5,4-b]piridin-5-ilo que pueden tener uso clínico como agente único para el tratamiento del cáncer, y particularmente del cáncer de ovario y/o del mieloma múltiple. Además, la presente invención proporciona nuevos compuestos de oxazolo[5,4-b]piridin-5-ilo que pueden tener uso clínico junto con otro agente terapéutico tal como el sunitinib para el tratamiento del cáncer, y particularmente del cáncer renal. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención son potentes inhibidores de la cinasa MAP p38 (de la señalización de la cinasa MAP p38 α , p38 β y p38 en células cancerosas) y pueden presentar un perfil toxicológico mejorado (especialmente de la toxicidad GI) y un menor riesgo de interacciones farmacológicas en el paciente en comparación con algunos de los inhibidores de la cinasa MAP p38 conocidos previamente.

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:



Fórmula I

en la que:

X es metoxietilo o etoximetilo;

Q es ciclopropilo, 2-metil-propanol-2-ilo, 3-metiloxetan-3-ilo, 1-hidroximetil-1-ciclopropilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

La presente invención también proporciona 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol cristalino caracterizado por el patrón de difracción de rayos X en polvo (radiación de Cu, $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) que comprende un pico a 15,06, y uno o más picos a 19,94, a 10,31 y a 20,78 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

5 La presente invención también proporciona 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol cristalino caracterizado por el patrón de difracción de rayos X en polvo (radiación de Cu, $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) que comprende un pico a 13,73, y uno o más picos a 16,54, a 22,87 y a 18,57 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

10 La presente invención proporciona un compuesto que es 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona un compuesto que es 5-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-N-[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]oxazolo[5,4-b]piridin-2-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La presente invención proporciona un compuesto que es 5-[5-(2,4-difluorofenil)-2-(3-metiloxetan-3-il)-1H-imidazol-4-il]-N-[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]oxazolo[5,4-b]piridin-2-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona un compuesto que es [1-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-2-etoxi-1-metil-etil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]ciclopropil] metanol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Esta invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto o una sal de la presente invención junto con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una forma de realización en particular, la composición comprende adicionalmente uno o más de otros agentes terapéuticos. Más particularmente, el otro agente terapéutico es sunitinib.

25 Esta invención también proporciona un compuesto o una sal de la presente invención para su uso en terapia. La invención también proporciona un compuesto o una sal de la presente invención para su uso en el tratamiento del cáncer. Adicionalmente, esta invención proporciona el uso de un compuesto o de una sal de la presente invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. Adicionalmente, esta invención proporciona el uso de un compuesto o de una sal de la presente invención para su uso en el tratamiento del cáncer. En particular, este cáncer es cáncer de ovario. Adicionalmente, este cáncer es mieloma múltiple.

30 Esta invención también proporciona un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y sunitinib como una preparación combinada para su uso simultáneo, por separado o secuencial en terapia.

35 La invención también proporciona sunitinib para su uso en una combinación simultánea, por separado o secuencial con un compuesto de la presente invención, o con una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el tratamiento del cáncer. En la alternativa, la invención proporciona un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en una combinación simultánea, por separado o secuencial con sunitinib en el tratamiento del cáncer. Más particularmente, el cáncer es cáncer renal.

40 El lector experto comprenderá que los compuestos de Fórmula I son capaces de formar sales. Los compuestos de la presente invención contienen heterociclos básicos, y consecuentemente reaccionan con cualquiera de los diversos ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables. Dichas sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables y la metodología habitual para la preparación de las mismas son bien conocidas en la materia. Véase, por ejemplo, P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA / Wiley-VCH, 2008); S. M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, nº 1, enero de 1977.

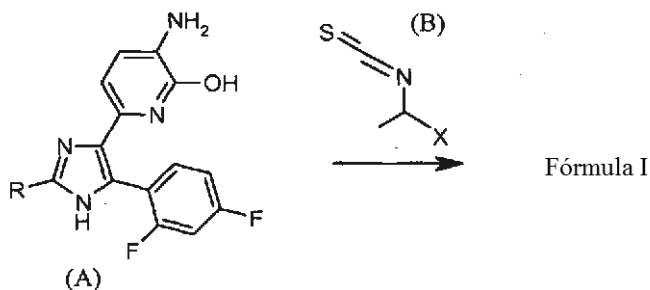
45 El artesano experto apreciará que los compuestos de la presente invención contienen al menos un centro quiral. La presente invención contempla todos los enantiómeros o los diastereómeros individuales, así como las mezclas de los enantiómeros y los diastereómeros de dichos compuestos, incluyendo los racematos. Se prefiere que los compuestos de la presente invención que contienen al menos un centro quiral existan en forma de enantiómeros o de diastereómeros individuales. Los enantiómeros o los diastereómeros individuales pueden ser preparados partiendo de reactivos quirales o mediante técnicas sintéticas estereoselectivas o estereoespecíficas.

50 Alternativamente, los enantiómeros o los diastereómeros individuales pueden aislarse a partir de mezclas mediante las técnicas habituales cromatográficas quirales o de cristalización.

El sunitinib, comercializado como SUTENT®, es un inhibidor oral del receptor de la cinasa de tirosina de molécula pequeña multiobjetivo que fue aprobado por la FDA para el tratamiento del carcinoma de células renales y de tumores estromales gastrointestinales resistentes al imatinib. El sunitinib se divulga en el documento WO200160814.

Esquema I

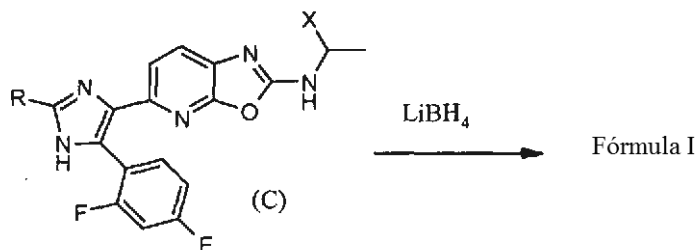
Preparación de los compuestos de Fórmula I, en la que R es ciclopropilo o 3-metiloxetan-3-ilo; X es como se ha definido anteriormente.



- 5 Se tratan orto-hidroxipiridil-3-aminas (A) con isotiocianatos (B), que pueden ser racémicos o un enantiómero individual, en etanol con calentamiento. Durante el calentamiento y periódicamente se añade un exceso de una N,N'-carbodiimida disustituida para eliminar el sulfuro de hidrógeno. Por ejemplo, puede usarse N,N'-diciclohexilcarbodiimida, N,N'-diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida. La síntesis de los isotiocianatos (B), que pueden ser racémicos o un enantiómero individual, se describe en las
- 10 siguientes preparaciones.

Esquema II

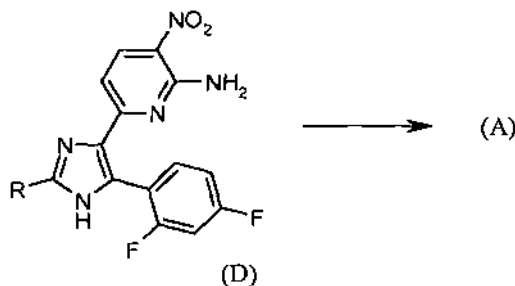
Preparación de los compuestos de Fórmula I, en la que R es metil 2-metil-propanocarboxiato-2-ilo o metil ciclopropano carboxilato-1-ilo; X es como se ha definido anteriormente.



- 15 Se reducen 5-(1H-imidazol-4-il)oxazolo[5,4-b]piridinas (C) con borhidruro de litio en éter para dar los compuestos de Fórmula I. Los intermedios (C) se preparan de una forma similar a partir de las correspondientes hidroxipiridil-3-aminas (A) (Esquema I), en las que R es metil 2-metil-propanocarboxiato-2-ilo o metil ciclopropano carboxilato-1-ilo con isotiocianatos (B), como en el Esquema I.

Esquema III

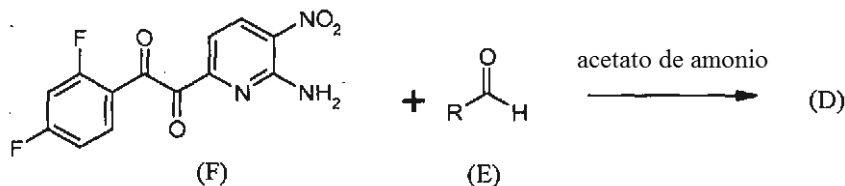
- 20 Síntesis de los intermedios (A), en los que R es metil 2-metil-propanocarboxiato-2-ilo, metil ciclopropano carboxilato-1-ilo, ciclopropilo o 3-metiloxetan-3-ilo.



- 25 La 6-(1H-imidazol-4-il)-3-nitro-piridin-2-amina (D) experimenta manipulaciones en el grupo funcional del anillo de piridina que implican la diazotación del grupo 2-piridil amina, seguida de una inactivación con agua, después una hidrogenación del grupo 3-piridil nitro para dar los intermedios (A).

Esquema IV

Síntesis de los intermedios (D), en los que R es según se ha definido en el Esquema III.



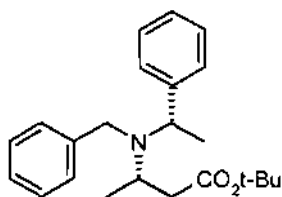
5 Los intermedios (D) se preparan a partir de 1-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona (F) y los aldehídos conocidos (E) mediante un calentamiento en dioxano con acetato de amonio. La síntesis del intermedio (F) se describe en las siguientes preparaciones.

10 Los compuestos de la presente invención se preparan esencialmente según se ilustra en los Esquemas, las Preparaciones y los Ejemplos que siguen. Los reactivos y los materiales de partida están fácilmente disponibles para el experto habitual en la materia o pueden ser elaborados mediante procedimientos que se eligen de entre técnicas convencionales de química orgánica y heterocíclica, técnicas que son análogas a las síntesis de compuestos conocidos estructuralmente similares, y los procedimientos descritos en los siguientes Ejemplos, incluyendo cualquier procedimiento nuevo. Debe entenderse que las Preparaciones y los Ejemplos se establecen como ilustración, y que el experto en la materia puede realizar diversas modificaciones.

15 La nomenclatura de las siguientes Preparaciones y Ejemplos se realiza generalmente mediante el uso de la función de nomenclatura de la IUPAC del SYMYX® Draw versión 3.2.NET.

Preparación 1

(3S)-3-[Bencil-[(1S)-1-feniletil]amino] butanoato de *terc*-butilo

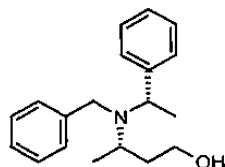


20 Las preparaciones 1 y 2 se han descrito en el documento WO 2006/076595 para el enantiómero R,R. Véase también Davies, S. G. e Ichihara, O. Tetrahedron: Asymmetry 1991, 2, 183 - 186 para la síntesis asimétrica de los 3-aminobutanoatos a partir de (E)-but-2-enoatos (crotonatos).

25 Se disuelve (1S)-N-bencil-1-fenil-etanamina (28,53 g, 135 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (THF) y la solución se enfría hasta 0 °C en una atmósfera de argón. Se añade gota a gota N-butil-litio (2,5 M en hexanos, 54 ml, 135 mmol) durante 30 min. La mezcla de reacción se agita durante 20 min a 0 °C y después se enfría hasta -78 °C. Se añade una solución de (E)-but-2-enoato de *terc*-butilo (10 g, 70,32 mmol) en THF anhidro (75 ml) a la mezcla de reacción durante 20 min. Después de 75 min, la reacción se inactiva mediante la adición de una solución saturada de NH₄Cl (175 ml) y NaCl acuoso saturado (salmuera, 100 ml). Las capas se separan y la capa acuosa se extrae con éter dietílico (2 x 125 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄ anhidro, se filtran y se concentran para proporcionar un aceite de color amarillo. El producto en bruto se disuelve en hexanos (250 ml) y se lava con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % (3 x 75 ml). La capa orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (24,12 g, 97 %). CL-ES / EM m/z 354 (M + 1).

Preparación 2

(3S)-3-[Bencil-[(1S)-1-feniletil]amino]butan-1-ol

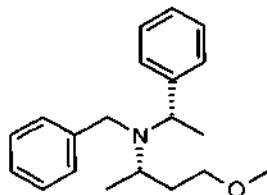


35

5 Se disuelve (3S)-3-[bencil-[(1S)-1-feniletil]amino] butanoato de *terc*-butilo (24 g, 67,9 mmol) en THF anhidro (237 ml) y se enfría hasta 0 °C en una atmósfera de argón. Se añade gota a gota hidruro de litio y aluminio 1 M en THF (237 ml, 237 mmol) durante 10 min. La mezcla de reacción se agita a 0 °C durante 1 h y después a 60 °C durante 1 h. La mezcla se enfría hasta la temperatura ambiente (TA) y se diluye con éter dietílico (500 ml). La reacción se inactiva con una mezcla de CELITE® y se añade en porciones Na₂SO₄ · 10 H₂O (1:1) durante 15 min. La mezcla se filtra y se concentra a vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (17,54 g, 90 %). CL-ES / EM m/z 284 (M + 1).

Preparación 3

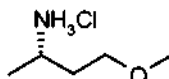
(2S)-N-Bencil-4-metoxi-N-[(1S)-1-feniletil]butan-2-amina



10 Se disuelve (3S)-3-[bencil-[(1S)-1-feniletil]amino]butan-1-ol (17,54 g, 61,9 mmol) en THF anhidro (186 ml) y se enfría hasta 0 °C en una atmósfera de argón. Se añade en porciones hidruro de sodio (4,95 g, suspensión al 60 % en aceite mineral, 123,8 mmol) durante 10 min. La mezcla se agita a 0 °C durante 15 min, y después se deja calentar hasta la TA. Se añade gota a gota yoduro de metilo (10,54 g, 74,28 mmol) durante 30 min. Después de agitar durante 30 min adicionales, la reacción se inactiva mediante la adición de una solución saturada de NH₄Cl en agua. Las capas se separan y la capa acuosa se extrae con éter dietílico (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄, se concentran y el producto en bruto se purifica mediante una cromatografía en fase normal (dos cartuchos de 120 g de gel de sílice, 10 % de metil *terc*-butil éter en hexanos) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (14,96 g, 81 %). CL-ES / EM m/z 298 (M + 1).

20 Preparación 4

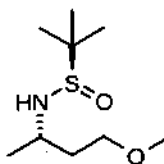
Clorhidrato de (S)-4-metoxibutan-2-amina



25 Se disuelve (2S)-N-bencil-4-metoxi-N-[(1S)-1-feniletil]butan-2-amina (14,96 g, 50,29 mmol) en metanol (400 ml). La solución se desoxigena mediante el burbujeo de nitrógeno a su través, se añade hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (1,50 g) a la solución y la suspensión resultante se satura con hidrógeno y se agita en una atmósfera de hidrógeno durante 16 h. El principal producto presente en ese momento es el producto mono desbencilado. La suspensión se filtra a través de una capa de CELITE®, y se añaden 1,1 g de hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono a la solución resultante. La suspensión se agita durante 24 h en una atmósfera de hidrógeno. La suspensión se filtra a través de una capa de CELITE®, y se añade una solución 2 N de HCl en éter dietílico (60 ml) a la mezcla y se agita durante 30 min. La solución se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (7,01 g, 99 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,48 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,8 - 1,9 (1H, m), 2,0 - 2,1 (1H, m), 3,37 (3H, s), 3,5 - 3,7 (3H, m), 8,3 (3H, a).

Preparación 5

(R)-N-[(1S)-3-Metoxi-1-metil-propil]-2-metil-propan-2-sulfonamida



35 El siguiente procedimiento está adaptado a partir de Ellman, J. A. et al *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 626 - 629.

40 A una solución 1 N de HCl (7,0 ml, 7,00 mmol) se añade gota a gota 1,3,3-trimetoxibutano (53,19 ml, 337,38 mmol), y la solución resultante se calienta a 50 °C y se agita durante 30 min. A la mezcla se añade bicarbonato de sodio (16,50 g, 196,41 mmol), previamente enfriado hasta la TA, seguido de éter dietílico y MgSO₄. Una filtración seguida de la evaporación del disolvente proporciona el intermedio de ceto-éter, la 4-metoxibutan-2-ona, en forma de un

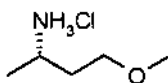
aceite de color amarillo. El aceite se añade a una solución de (R)-(+)-2-metil-2-propanosulfonamida (36,80 g, 303,64 mmol) y etóxido de titanio (IV) (123,14 g, 539,80 mmol) en THF (482 ml) a 25 °C en una atmósfera de nitrógeno. La suspensión de color amarillo resultante se calienta hasta 60 °C y se agita a esta temperatura durante 16 h. La mezcla de reacción se enfría hasta la TA y después hasta -48 °C. Se añade gota a gota tri(sec-butil)borhidruro de litio 1,0 M en THF (539,80 ml, 539,80 mmol). La mezcla de reacción se deja calentar hasta la TA. Después de 1 h, la mezcla de reacción se enfría hasta 0 °C y se añade a metanol (1.100 ml) mientras se agita rápidamente hasta que ya no se observa evolución gaseosa. La suspensión resultante se filtra a través de un lecho de CELITE®, y la torta del filtro se lava con acetato de etilo. El filtrado se lava con salmuera, y la capa de salmuera se extrae dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan hasta un aceite de color amarillo.

El producto en bruto es adsorbido en gel de sílice y purificado a través de una columna de gel de sílice mediante el uso de un gradiente de hexano / acetato de etilo (desde 7:1 hasta un 100 % acetato de etilo) para proporcionar el producto deseado. Otras fracciones, que contienen una impureza apolar y el producto deseado, se recogen y se purifican de nuevo mediante una cromatografía en gel de sílice. La impureza apolar se elimina con hexano / acetato de etilo, 4:1. El producto deseado se eluye con diclorometano / metanol, 95:5 para obtener material adicional. Los dos lotes de material se combinan para dar 38 g (54 %), que es una proporción de aproximadamente 3:1 del diastereómero deseado / no deseado según se observa mediante una CLEM.

El material (38 g) se combina con otro lote de material (23 g) que se elabora mediante el uso del mismo procedimiento general, y los diastereómeros (proporción de 3:1, 61 g) se separan mediante una cromatografía líquida de alta resolución en fase quiral (fase estacionaria: OD-H; tamaño de la columna: (20 µm, de 80 x 250 mm); modo de elución: isocrático; fase móvil: hexano / isopropanol; caudal: 300 ml/min; detección UV: 215,16 nm; carga: 4 g / 6 min. El primer pico que eluye es el diastereómero menor, T_R = 4,75 min. El segundo pico que eluye es el diastereómero principal (el compuesto del título), T_R = 6,61 min. El compuesto del título se obtiene en forma de un aceite de color amarillento (43,5 g) a partir de la cromatografía quiral. ES / EM m/z 208 (M + 1); > 98 % ee.

25 Preparación 6

Clorhidrato de (S)-4-metoxibutan-2-amina

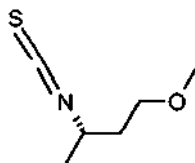


Se añade cloruro de hidrógeno 4,0 M en dioxano (110,15 g, 419,61 mmol) a una solución de (R)-N-[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]-2-metil-propan-2-sulfonamida (43,5 g, 209,80 mmol) en 1,4-dioxano (109 ml) a 0 °C, y la mezcla de reacción se agita durante 1 h a la TA. El disolvente se concentra a presión reducida, el residuo se resuspende en tolueno y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se seca a vacío durante 15 min. Se añade THF y precipita un sólido de color blanco. El sólido de color blanco se elimina mediante una filtración, se lava con THF, se deja secar y se recoge para proporcionar el compuesto del título (25,4 g, 87 %).

La configuración absoluta de la amina puede ser confirmada mediante una derivatización con ácido (S)-(-)-α-metoxi-α-trifluorometilfenil-acético y la comparación de la RMN con el mismo derivado de la (S)-4-metoxibutan-2-amina de la Preparación 4 obtenido a partir de la vía quiral.

Preparación 7

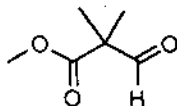
(3S)-3-Isotiocianato-1-metoxi-butano



Se suspende clorhidrato de (S)-4-metoxibutan-2-amina (25,4 g, 181,92 mmol) en THF (609 ml) y se añade trietilamina (TEA, 32,17 ml, 230,78 mmol). Se añade 1,1'-tiocarbonildiimidazol (46,74 g, 251,76 mmol) a la suspensión de color blanco (reacción ligeramente exotérmica) y la suspensión de color amarillo resultante se agita en una atmósfera de nitrógeno durante una noche. Se añade acetato de etilo (500 ml) a la suspensión de color amarillo, seguido de HCl 1 N (500 ml). La fase orgánica se separa y se lava con HCl 1 N (3 x 200 ml), agua (200 ml), y salmuera (200 ml), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (25,3 g, 83 %) en forma de un aceite de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,37 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,83 (2H, c, J = 6,6 Hz), 3,35 (3H, s), 3,6 - 3,4 (2H, m), 3,99 (1H, seis, J = 6,6 Hz).

Preparación 8

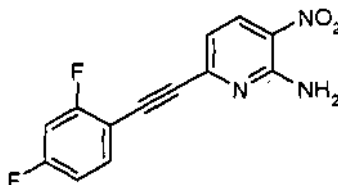
2,2-Dimetil-3-oxo-propanoato de metilo



- 5 Se disuelve 3-hidroxi-2,2-dimetil-propanoato de metilo (52,4 g, 396,49 mmol) en diclorometano (495 ml) y la mezcla se enfría en un baño de agua helada. Se añade en porciones ácido tricloroisocianúrico (101,36 g, 436,14 mmol), seguido de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-N-óxido (6,20 g, 39,65 mmol). La mezcla se agita a 0 °C durante 15 min y después se deja calentar hasta la TA y se agita durante 60 min adicionales. Después el sólido se filtra a través de CELITE® y se aclara con diclorometano (300 ml). El filtrado se lava con una solución saturada de Na₂CO₃ en agua.
- 10 La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (41,24 g, 80 %) en forma de un aceite de color verdoso. El producto se usa sin purificación adicional en la siguiente etapa de reacción. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,34 (6H, s), 1,34 (6H, s), 3,74 (3H, s), 9,64 (1H, s).

Preparación 9

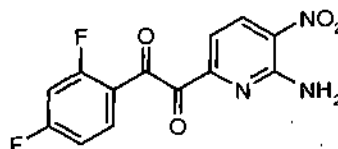
6-[2-(2,4-Difluorofenil)etnil]-3-nitro-piridin-2-amina



- 15 Se cargan 6-cloro-3-nitro-piridin-2-ilamina (1.254 g, 7,23 mol), trietilamina (1.510 ml, 10,84 mol) y acetonitrilo (10 l) en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 20 l equipado con un agitador mecánico en una atmósfera de nitrógeno. A la suspensión de color amarillo resultante se añaden yoduro de cobre (I) (13,9 g, 72,3 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio (II) (50,72 g, 72,3 mmol). La suspensión de color naranja pálido resultante se enfría hasta 0 - 5 °C y después se desgasifica durante 10 min con nitrógeno. Se añade gota a gota una solución de 1-etnil-2,4-difluoro-benceno (1.100 g, 7,95 mol) disuelto en acetonitrilo (2,5 l) durante 60 min. La mezcla resultante se deja
- 20 en agitación a la TA (30 °C) durante una noche. La mezcla se enfría hasta 0 - 5 °C. A la suspensión se añade tolueno (6 l) y la mezcla se agita durante 45 min y se filtra a través de un vidrio poroso. El sólido se lava con tolueno (3 x 3 l), agua (2 x 3 l) y se seca durante una noche en un horno de vacío, para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1.750 g, 92 %). CL-ES / EM m/z 276 (M + 1).

Preparación 10

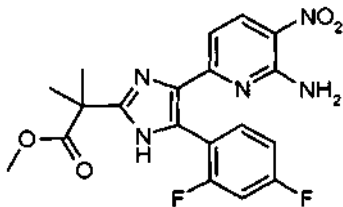
1-(6-Amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona



- A una suspensión fría (0 - 10 °C) de 6-[2-(2,4-difluorofenil)etnil]-3-nitro-piridin-2-amina (500 g, 1,82 mol) en acetona (10 l), se añade tampón frío [NaH₂PO₄ (0,8 M) / Na₂HPO₄ (0,8 M) = 85 / 15 (V/V)] (pH = 6,0; 0 - 10 °C; 10 l). La temperatura se mantiene a 15 °C. Se añade en porciones permanganato de potasio (1.035 g, 6,55 mol) (3 porciones). La mezcla se agita durante 4 h a 15 °C. El pH se ajusta a pH = 5,0 y la temperatura se mantiene por debajo de 15 °C. Se añade lentamente una solución de tiosulfato de sodio al 28 % (2.054 ml, 3,64 mol), manteniendo la temperatura por debajo de 15 °C y el pH por debajo de 7,5. A la suspensión se añade salmuera (7,5 l) y una mezcla de metil *tert*-butil éter (3,75 l) y acetato de etilo (3,75 l). La mezcla se agita durante 15 min a 13 °C. Las dos
- 35 fases se separan y la suspensión acuosa de color marrón se extrae dos veces con metil *tert*-butil éter (3,5 l). Las capas orgánicas combinadas se recogen y se lavan con salmuera (2 x 3 l), se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y el disolvente se evapora a presión reducida para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (375 g). El experimento se repite en las mismas condiciones dos veces más. Los lotes resultantes se combinan para proporcionar 1.080 g. CL-ES / EM m/z 308 (M + 1).

Preparación 11

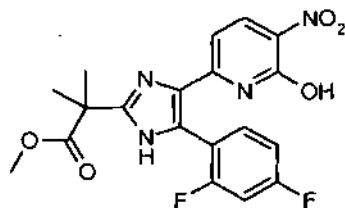
2-[4-(6-Amino-5-nitro-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo



5 En un matraz de fondo redondo con un condensador de reflujo se añaden 1-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona (50 g, 162,75 mmol), acetato de amonio (126,72 g, 1,63 mol), 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo (42,36 g, 325,51 mmol) y 1,4 dioxano (163 ml). La mezcla de reacción se calienta hasta 80 °C durante 1,5 h. La solución inicial de color naranja se vuelve oscura con el calentamiento. La mezcla de reacción se concentra a presión reducida para eliminar el dioxano y el residuo se seca a alto vacío durante una noche. El residuo se redissuelve en acetato de etilo (800 ml) y se extrae con una solución 2 M de Na₂CO₃ en agua. La fase orgánica se
10 se seca sobre MgSO₄, se concentra y se seca a alto vacío durante una noche para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido en bruto de color naranja (80 g) que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-ES / EM m/z 418 (M + 1).

Preparación 12

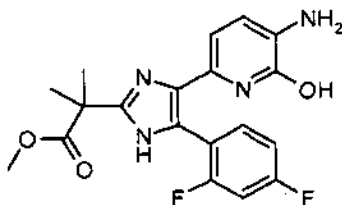
2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-(6-hidroxi-5-nitro-2-piridil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo



15 A una solución de 2-[4-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (56 g, 134,17 mmol) en dimetilsulfóxido (DMSO, 400 ml) y agua (320 ml), se añade gota a gota ácido sulfúrico al 95 - 97 % (80 ml). A continuación, la mezcla se enfría hasta 0 °C. A la mezcla anterior se añade gota a gota una solución de nitrito de sodio (18,70 g, 268,35 mmol) en agua (80 ml) durante 15 min a 0 °C. La mezcla de reacción se agita durante 20 min a esa temperatura y después se retira el baño de refrigeración y la temperatura se deja aumentar hasta la TA. A la mezcla de reacción se añade una solución acuosa 0,8 M de fosfato de sodio monobásico tamponado (1.200 ml, pH = 6). Aparece una suspensión de color amarillo. Esta suspensión se agita a la TA durante 1 h. El sólido se filtra, se lava con agua y se seca en el horno para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (49,5 g, 88 %). CL-ES / EM m/z 419 (M + 1).

Preparación 13

2-[4-(5-Amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo



30 Se agita una mezcla de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-(6-hidroxi-5-nitro-2-piridil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (49,5 g, 118,32 mmol) y paladio al 5 % en peso (base seca) sobre carbono activado (4,95 g, 2,33 mmol) en metanol (1,18 l) en una atmósfera de hidrógeno (globo) a la TA durante una noche. La suspensión se filtra a través de CELITE®, se aclara con metanol y el filtrado se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en bruto (39 g) en forma de un sólido de color pardo.

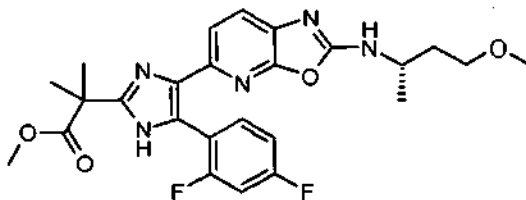
El material en bruto (90 g, 231,74 mmol), procedente de múltiples análisis, se purifica como sigue. El material se

suspende en una mezcla 1:1 de diclorometano (450 ml) y acetato de etilo (450 ml). La suspensión se agita a la TA durante una noche. La suspensión se elimina mediante una filtración y el sólido se lava con una mezcla 1:1 de diclorometano / acetato de etilo. El sólido de color marrón se deja secar y se recoge para dar 67 g del compuesto del título con una pureza > 98 % mediante una cromatografía líquida con espectrometría de masas. CL-ES / EM m/z 389 (M + 1).

5

Preparación 14

2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazol[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo

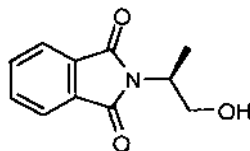


10 Se añade (3S)-3-isotiocianato-1-metoxi-butano (24,68 g, 169,94 mmol) a una suspensión de 2-[4-(5-amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (55 g, 141,62 mmol) en etanol (550 ml) a la TA. La mezcla de reacción se agita a reflujo durante una noche y después se enfría hasta 50 °C. A la mezcla se añade diciclohexilcarbodiimida (37,99 g, 184,10 mmol) y la suspensión resultante se agita a reflujo durante 20 h. Se deja que la reacción alcance la TA y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se absorbe en gel de sílice y se purifica a través de una columna de gel de sílice (en primer lugar mediante el uso de diclorometano como eluyente para eliminar las impurezas más apolares, y después con diclorometano / metanol 95:5 para eluir el producto deseado) para proporcionar el compuesto del título (52 g, 74 %) en forma de una espuma de color marrón oscuro. CL-ES / EM m/z 500 (M + 1).

15

Preparación 15

20 2-[(1S)-2-Hidroxi-1-metil-etil]isoindolin-1,3-diona

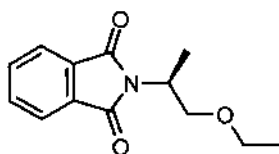


Se calienta una mezcla de (2S)-2-aminopropan-1-ol (26 ml, 333 mmol) y anhídrido ftálico (51,7 g, 349,4 mmol) a 140 °C durante una noche. Durante este tiempo el sólido se transforma en un líquido de color naranja. La reacción se enfría hasta la TA y se diluye con acetato de etilo (10 ml/g). La fase orgánica se lava con NaHCO₃ saturado y ácido cítrico al 10 %, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título (68,3 g, 98 %) en forma de un sólido de color blanco que se usa sin purificación adicional. CL-ES / EM m/z 206 (M + 1).

25

Preparación 16

2-[(1S)-2-Etoxi-1-metil-etil]isoindolin-1,3-diona

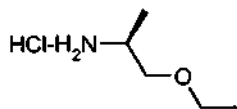


30 A una solución de 2-[(1S)-2-hidroxi-1-metil-etil]isoindolin-1,3-diona (47 g, 229 mmol) y yodoetano (89,3 g, 572,5 mmol) en THF (376 ml) se añade *tert*-butóxido de potasio (64,25 g, 572,5 mmol) en una porción. La mezcla se agita en una atmósfera de nitrógeno durante 15 h. La mezcla se diluye con acetato de etilo (200 ml) y se lava con salmuera (200 ml). La fase acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO₄, se filtran, se concentran a presión reducida, y después se secan a alto vacío para proporcionar el compuesto del título (39,4 g, 74 %) en forma de un sólido de color naranja que se usa sin purificación adicional. CL-ES / EM m/z 234 (M + 1).

35

Preparación 17

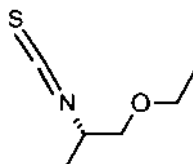
Clorhidrato de (2S)-1-etoxipropan-2-amina



- 5 Se disuelve 2-[(1S)-2-etoxi-1-metil-etil]isoindolin-1,3-diona (12,84 g, 55 mmol) en metanol (120 ml). Se añade lentamente hidrazina monohidratada (6,9 ml, 138 mmol) y la mezcla se agita a 40 °C durante 4 h (se forma un sólido de color blanco). Se añade NaOH (1 ml) y el pH se eleva hasta 13 - 14. El sólido se filtra y se lava con diclorometano. Las capas del filtrado se separan y la capa acuosa se extrae adicionalmente con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄ y se filtran. A la solución se añade HCl 2 N en éter (70 ml, 140 mmol). La mezcla se agita durante 15 min y el disolvente se evapora a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (6,61 g, 86 %). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD); δ 1,22 (t, 3 H, J = 7,02 Hz), 1,28 (d, 3 H, J = 6,52 Hz), 3,42 (m, 2H), 3,58 (m, 3H).

Preparación 18

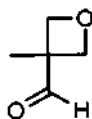
(2S)-1-Etoxi-2-isotiocianato-propano



- 15 A una solución de clorhidrato de (2S)-1-etoxipropan-2-amina (2 g, 12,03 mmol) en dimetilformamida (DMF, 20 ml) y TEA (1,85 ml, 13,24 mmol) se añade 1,1'-tiocarbonildiimidazol (2,36 g, 13,24 mmol). La mezcla se agita en una atmósfera de nitrógeno durante 16 h. La mezcla se diluye con acetato de etilo y se lava concienzudamente con HCl 1 N, agua y salmuera, se seca sobre MgSO₄ y se concentra a presión reducida (la temperatura del baño no debe superar los 20 °C para evitar la evaporación del producto) para obtener un material en bruto (1,84 g) que contiene el compuesto del título, que se usa como tal sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,26 (t, 3H, J = 7,13 Hz), 1,33 (d, 2H, J = 6,63 Hz), 3,46 (dd, J = 5,86, 1,62 Hz, 2H), 3,55 (dd, J = 13,98, 6,97 Hz, 2H), 3,93 (m, 1H).

Preparación 19

3 -Metiloxetan-3-carbaldehído



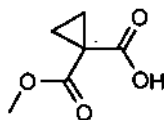
- 25 Se disuelve (3-metiloxetan-3-il) metanol (6,0 g, 58,75 mmol) en diclorometano (117 ml). Se añade en porciones ácido tricloroisocianúrico (13,93 g, 59,92 mmol) a -5 °C seguido de la adición de 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo (TEMPO) (0,92 g, 5,87 mmol). La mezcla de reacción se agita a -5 °C durante 20 min, se deja calentar hasta la TA y se agita durante 20 min adicionales. La mezcla se filtra a través de una capa de CELITE®, se diluye con diclorometano (200 ml) y se lava con Na₂CO₃ acuoso saturado (100 ml), HCl 1 N (100 ml) y salmuera (50 ml). La porción orgánica se concentra para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color naranja (4,17 g, 71 %) que se usa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,48 (s, 3H), 4,50 (d, 2H, J = 6,34 Hz), 4,88 (d, 2H, J = 6,34 Hz), 9,95 (s, 1H).

Preparación alternativa:

- 35 Se añade bromuro de potasio (11,65 g, 0,098 mol) a una mezcla de (3-metiloxetan-3-il) metanol (200 g, 1,96 mol) y TEMPO (3,06 g, 0,019 mol) en diclorometano (2 l) a 0 °C. Después se añade gota a gota una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 10 % (1,6 l, 2,35 mol), ajustada a pH = 9 con NaHCO₃ sólido, a la solución anterior (3 h de adición, la temperatura interna se mantiene < 10 °C). La mezcla resultante se agita durante 15 min y las dos fases se separan. La fase acuosa se extrae con una mezcla al 10 % de 2-propanol / diclorometano hasta que ya no queda producto detectable mediante una cromatografía en capa fina de la fase acuosa. Las fases orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada de tiosulfato de sodio, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color naranja (114 g, 58 %).

Preparación 20

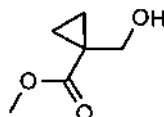
Ácido 1-metoxicarbonilciclopropanocarboxílico



5 Se disuelve ciclopropan-1,1-dicarboxilato de dimetilo (26,08 ml, 189,87 mmol) en metanol (319 ml) y la solución se enfría hasta 0 °C, se añade gota a gota NaOH 1 N (190 ml, 190 mmol, 1 eq) en agua. La mezcla resultante se agita a la TA durante una noche. La solución se concentra a presión reducida para eliminar el metanol, y la solución acuosa resultante se lava con diclorometano (3 x 50 ml) y se acidifica con HCl 1 N (pH = 2 - 3). Después la solución se extrae con acetato de etilo (5 x 100 ml) y diclorometano (3 x 50 ml). Las porciones orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título (16,4 g, 60 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,9 - 1,7 (m, 4H), 3,78 (s, 3H).

Preparación 21

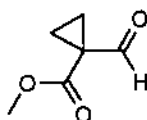
1-(Hidroximetil) ciclopropanocarboxilato de metilo



15 Se cargan ácido 1-metoxicarbonilciclopropano carboxílico (16,4 g, 113,89 mmol), TEA (17,6 ml, 127,55 mmol) y THF (325 ml) en un matraz de fondo redondo. La mezcla se enfría hasta -10 °C y se añade gota a gota cloroforniato de isobutilo (16,5 ml, 127,55 mmol). La solución se agita durante 1 h. En un matraz aparte se disuelve borhidruro de sodio (13 g, 341,67 mmol) en una mezcla de THF (165 ml) y agua (40 ml) y se enfría en un baño de hielo. El material insoluble se elimina mediante una filtración a partir de la primera solución. A la solución de borhidruro se añade la solución de ácido 1-metoxicarbonilciclopropano carboxílico descrita anteriormente, gota a gota durante un periodo de 20 1,5 h. La solución resultante se agita a la misma temperatura durante 1 h. La mezcla de reacción se vierte en una solución acuosa enfriada de ácido cítrico al 20 % y se extrae con acetato de etilo (3 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (13,5 g, 91 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 0,9 - 0,8 (m, 2H), 1,3 - 1,2 (m, 2H), 3,62 (s, 2H) 3,69 (s, 3H).

Preparación 22

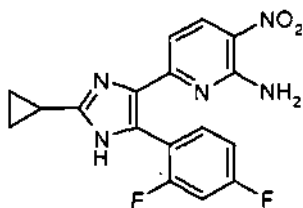
1-Formilciclopropanocarboxilato de metilo



30 Se disuelve 1-(hidroximetil) ciclopropanocarboxilato de metilo (16,0 g, 123,07 mmol) en diclorometano (320 ml) y la mezcla se enfría hasta -5 °C. Se añade en porciones ácido tricloroisocianúrico (29,1 g, 125,5 mmol) seguido de la adición de TEMPO (1,9 g, 12,3 mmol). La mezcla de reacción se agita a -5 °C durante 20 min, se deja calentar hasta la TA y se agita durante 20 min. La mezcla se filtra a través de una capa de CELITE® y se diluye con diclorometano (500 ml). La solución se lava con Na₂CO₃ saturado (300 ml), HCl 1 N (300 ml) y salmuera (300 ml), y cloruro de amonio saturado (3 x 200 ml). La porción orgánica se seca sobre MgSO₄, y se filtra y se concentra a presión reducida para obtener 19 g del compuesto del título, que todavía contiene diclorometano (teóricamente 15,75 g). El 35 material se usa como tal en la siguiente reacción. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃); δ 1,7 - 1,6 (m, 4H), 3,81 (s, 3H), 10,38 (s, 1H).

Preparación 23

6-[2-Ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-amina



5 Se carga un tubo KIMAX® con 1-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona (5 g, 16,28 mmol), 1,4-dioxano (50 ml) y acetato de amonio (6,27 g, 81,38 mmol). Se añade gota a gota ciclopropanocarbaldéido (3,42 ml, 48,83 mmol) a la mezcla. La mezcla resultante se purga con nitrógeno, el tubo se precinta y se calienta a 80 °C durante una noche; tras lo cual la mezcla se deja enfriar hasta la TA. Después la mezcla se concentra a sequedad a presión reducida. Se añaden acetato de etilo (700 ml) y una solución acuosa saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera (3 x 250 ml), se seca sobre MgSO₄ y se concentra para proporcionar el compuesto del título en bruto (5,5 g) que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-ES / EM m/z 358 (M + 1).

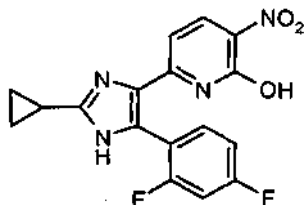
10 Preparar los intermedios de la siguiente tabla, siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 23, mediante el uso de 1-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona y del aldehído apropiado como materiales de partida.

Prep.	Estructura	Nombre químico	CL-ES / EM m/z
24 *		6-[5-(2,4-Difluorofenil)-2-(3-metiloxetan-3-il)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-amina	388 (M + 1)
25		1-[4-(6-Amino-5-nitro-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]ciclopropanocarboxilato de metilo	416 (M + 1)

* La reacción se lleva a cabo a 90 °C durante 1,5 h. Durante la preparación precipita un sólido y se recoge mediante la adición de una solución de bicarbonato. El filtrado se prepara como antes para la obtención de un aceite de color rojo. Al aceite se le aplican ultrasonidos en una mezcla 4:1 de acetato de etilo / hexano para obtener una suspensión que se filtra.

Preparación 26

6-[2-Ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-ol

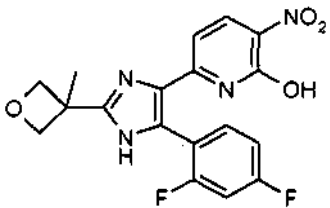
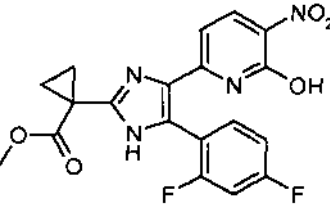


15 Se suspende 6-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-amina (5,51 g, 15,41 mmol) en dimetilsulfóxido (DMSO, 32 ml), agua (25 ml) y H₂SO₄ concentrado (6 ml). La suspensión se enfría hasta 0 °C y se añade en porciones nitrito de sodio (2,13 g, 30,81 mmol) a una velocidad tal que la temperatura se mantiene por debajo de 5 °C. La mezcla se agita a 0 °C durante 30 min, y después se deja calentar hasta la TA, y se agita hasta que la cromatografía líquida / espectrometría de masas (CL / EM) muestra una conversión completa del material de partida (1 hora). A la mezcla se añade una solución acuosa 0,8 M de fosfato de sodio monobásico (200 ml). Se forma una suspensión de color amarillo. Después se añade NaOH 1 N acuoso hasta que el pH se eleva hasta 8. La mezcla se agita durante 30 h, se filtra y el sólido se aclara con agua, y después se seca a presión reducida para

20

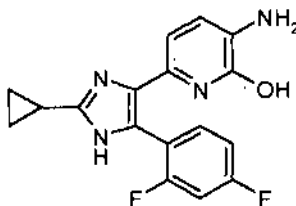
proporcionar el compuesto del título (4,53 g, 82 %). CL-ES / EM m/z 358,9 (M + 1).

Preparar los intermedios de la siguiente tabla, siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 26, mediante el uso de la 3-nitro-piridin-2-amina apropiada como material de partida.

Prep.	Estructura	Nombre químico	CL-ES / EM m/z
27		6-[5-(2,4-Difluorofenil)-2-(3-metiloxetan-3-il)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-ol	389,1 (M + 1)
28		1-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-(6-hidroxi-5-nitro-2-piridil)-1H-imidazol-2-il]ciclopropanocarboxilato de metilo	417 (M + 1)

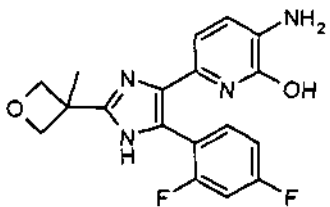
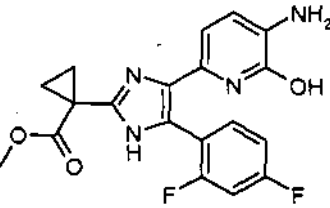
5 Preparación 29

3-Amino-6-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]piridin-2-ol



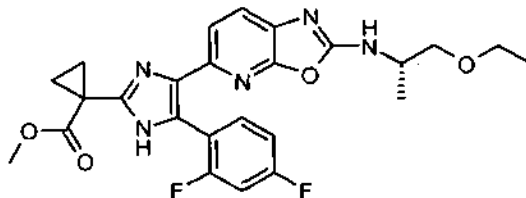
Se disuelve 6-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-3-nitro-piridin-2-ol (4,525 g, 12,63 mmol) en etanol (63 ml). La solución se desgasifica mediante el burbujeo de gas nitrógeno. Se añade en porciones Pd al 10 % / C (920 mg) a la mezcla y la mezcla se satura con hidrógeno. La mezcla se agita en una atmósfera de hidrógeno (globo) a la TA durante el fin de semana, momento en el cual la CL / EM muestra una conversión completa. La suspensión se filtra a través de una capa de CELITE® para eliminar el catalizador y la solución se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (3,97 g, 89 %). CL-ES / EM m/z 328,9 (M + 1).

Preparar los intermedios de la siguiente tabla, siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 29, mediante el uso del 3-nitro-piridinol apropiado como material de partida.

Prep.	Estructura	Nombre químico	CL-ES / EM m/z
30		3-Amino-6-[5-(2,4-difluorofenil)-2-(3-metiloxetan-3-il)-1H-imidazol-4-il]piridin-2-ol	359 (M + 1)
31		1-[4-(5-Amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il] ciclopropanocarboxilato de metilo	387 (M + 1)

Preparación 32

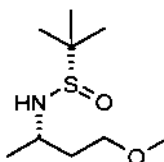
1-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-2-etoxi-1-metil-etil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]ciclopropanocarboxilato de metilo



- 5 Se disuelve una mezcla de 1-[4-(5-amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]ciclopropanocarboxilato de metilo (4 g, 10,35 mmol) y (2S)-1-etoxi-2-isotiocianato-propano (2,379 g, 15,53 mmol) en etanol (34 ml). La mezcla se calienta a 85 °C en un matraz precintado durante 16 h. Se añade gota a gota diisopropilcarbodiimida (3,21 g, 20,71 mmol) y la mezcla se agita a 85 °C durante 16 h, tiempo tras el cual se añaden 3 g adicionales de diisopropilcarbodiimida y la mezcla se calienta a 85 °C durante 4 h adicionales. El disolvente se evapora y el residuo se purifica mediante una cromatografía en fase normal (cartucho de gel de sílice de 120 g, mediante el uso de un gradiente de hexano - etanol para proporcionar el compuesto del título (1,180 g, 24 %). CL-ES / EM m/z 498,1 (M + 1).

Preparaciones para la síntesis alternativa del Ejemplo 1**Preparación 33**

- 15 (S)-N-[(1S)-3-Metoxi-1-metil-propil]-2-metil-propan-2-sulfonamida

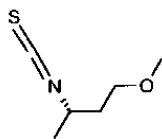


Para una comparación de L-Selectride frente a borhidruro de sodio en la reducción de *N-terc*-butanosulfinil iminas véase Faul, M. M. J. Org. Chem. 2007, 71,6859 - 6862.

- 20 Se combina 1,3,3-trimetoxibutano (145,4 g, 0,98 mol) con ácido clorhídrico acuoso 1 N (50,0 ml, 0,05 mol) y se agita durante 1 - 2 h a la TA en una atmósfera de nitrógeno. Se añade THF (1,5 l) y el disolvente se evapora a la presión atmosférica habitual por debajo de 70 °C dos veces. Se añade THF (1,5 l) para preparar una solución de 4-metoxibutan-2-ona en THF. Se añaden (S)-(-)-2-metil-2-propanosulfonamida (124,4 g, 1,03 mol) y etóxido de titanio (IV) (447,0 g, 1,96 mol) y la reacción se calienta a 65 - 70 °C durante 16 - 17 h. La mezcla de reacción se enfría hasta entre -10 y 0 °C. Se añade en porciones borhidruro de sodio (37,0 g, 0,98 mol) y después la mezcla se agita durante 1 - 2 h a la misma temperatura. La mezcla de reacción se calienta hasta la TA y se agita durante 1 - 2 h. Después se enfría hasta 10 - 20 °C y se añade gota a gota metanol (100 ml) durante 1 - 2 h. Se añade cloruro de sodio acuoso al 25 % (300 ml) y la mezcla se calienta hasta la TA. Se añade acetato de etilo (500 ml). La mezcla se agita durante 1 - 2 h a la TA y después se filtra. La torta del filtro se aclara con acetato de etilo adicional (807 ml). Las capas se separan y la fase orgánica se lava con cloruro de sodio acuoso al 25 % (1,0 l). La fase acuosa se extrae con acetato de etilo (500 ml). Las porciones orgánicas se combinan, y el disolvente se destila a la presión atmosférica (sin vacío) por debajo de 75 °C para conseguir una solución con un volumen total de 300 - 500 ml. Se añaden acetato de etilo (600 ml) y tiosulfato de sodio (150,0 g) y la mezcla se agita durante 1 - 2 h a 20 - 30 °C. La mezcla se filtra y el filtrado se concentra. Los diastereómeros se separan mediante una cromatografía de fluidos supercríticos para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (205,0 g, 65 %).
- 35 Columna: ChiralPak® AD 10 µm, de 50 x 300 mm; modo de elución: isocrático; fase móvil: CO₂ / etanol; caudal: 280 ml/min; detección UV: 215,16 nm; carga: 300 mg/ml. El primer pico que eluye es el diastereómero menor, T_R = 15,17 min. El segundo pico que eluye es el diastereómero principal, que representa el compuesto del título, T_R = 17,11 min.

Preparación 34

- 40 (3S)-3-Isotiocianato-1-metoxi-butano

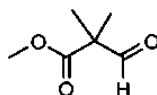


En una atmósfera de nitrógeno se combinan metanol (185 ml), THF (1,76 l) y N-S-[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]-2-metil-propano-2-sulfonamida (220,0 g, 1,06 mol) y se enfrían hasta entre -10 y 0 °C. Se añade ácido clorhídrico gota a gota (1,26 l, 5,3 mol, 4,2 N en THF) y la temperatura se mantiene por debajo de 10 °C. La mezcla de reacción se agita durante 3 - 4 h a 0 - 10 °C, y se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C hasta un volumen de solución de 400,0 - 600,0 ml. Se añade THF (880 ml) y la mezcla de reacción se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C hasta un volumen de solución de 400 - 600 ml. La mezcla de reacción se enfría hasta 20 - 30 °C y se agita durante 0,5 - 1 h. Se añaden cristales de siembra pueden generarse a partir de los sólidos obtenidos a partir de las Preparaciones 4 o 6, o pueden obtenerse mediante el uso de otros métodos habituales para el experto en la materia, tales como la recristalización de una pequeña alícuota). También se añade metil *tert*-butil éter (660 ml) y la mezcla se agita a 20 - 25 °C durante 2 - 4 h. La mezcla se enfría hasta 0 - 5 °C y se agita durante 2 - 4 h. Los sólidos se recogen mediante filtración y la torta del filtro se lava con metil *tert*-butil éter (110 ml). Los sólidos se transfieren a un recipiente de reacción y se añade metil *tert*-butil éter (660 ml) a la TA. Se añaden tiosulfato de sodio (270,0 g, 1,9 mol) e hidróxido de sodio (42,5 g, 1,06 mol) y la mezcla se agita durante 1 - 2 h a 10 - 20 °C. La mezcla se filtra y la torta del filtro se lava con metil *tert*-butil éter (440 ml) para proporcionar la (S)-4-metoxibutan-2-amina en forma de una solución en bruto en metil *tert*-butil éter (87,5 g). El material se usa en la siguiente reacción como sigue.

En una atmósfera de nitrógeno se añaden *N,N*-tiocarbonildiimidazol (97,0 g, 0,55 mol) y THF (470 ml) y la mezcla se agita durante 15 - 30 min. La mezcla se enfría hasta entre -10 y 0 °C, se añade una solución de (S)-4-metoxibutan-2-amina (46,9 g, 0,455 mol) en metil *tert*-butil éter (389 ml), y la mezcla de reacción se calienta hasta 10 - 20 °C. La mezcla de reacción se agita a esta temperatura durante 15 - 20 h, y después se enfría hasta 0 - 10 °C. Se añade ácido clorhídrico (275 ml, 4 N en agua) para llegar a un pH de entre 1 y 2. La mezcla de reacción se calienta a la TA y se separan las capas. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo (235 ml) y las capas orgánicas se combinan y se lavan con agua (140 ml). La solución orgánica se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C, se añade acetato de etilo (211,5 ml) y la solución se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C dos veces, y se añade acetato de etilo (235 ml). Se añade tiosulfato de sodio (32,3 g, 227,0 mmol), la solución se filtra y la torta del filtro se lava con acetato de etilo (104 ml). El filtrado se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C para formar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (55,0 g, 77 %).

Preparación 35

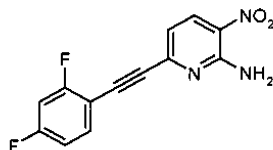
2,2-Dimetil-3-oxo-propanoato de metilo



Se combinan 3-hidroxi-2,2-dimetil-propanoato de metilo (25,4 kg, 192,2 mol) y diclorometano (241 l) en una atmósfera de nitrógeno a la TA con agitación, se añade (2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-il) oxilo (0,61 kg, 3,9 mol) y la mezcla de reacción se enfría hasta 0 - 5 °C. Se añade en porciones ácido tricloroisocianúrico (31,2 kg, 134,5 mol) a 0 - 5 °C y la mezcla de reacción se agita durante 16 - 18 h a esta temperatura. La reacción se filtra y la torta del filtro se lava con diclorometano (25,4 l) y el filtrado se concentra a presión reducida por debajo de 50 °C. Se añade 1,4-dioxano (25,4 l) y la fase orgánica se concentra a presión reducida por debajo de 65 °C para obtener el compuesto del título en forma de un líquido de color amarillo (127,8 kg, 77 %) que se usa sin purificación adicional.

Preparación 36

6-[2-(2,4-Difluorofenil)etnil]-3-nitro-piridin-2-amina

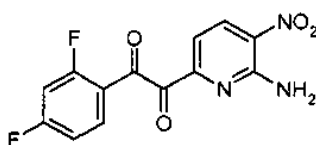


Se combinan 6-cloro-3-nitro-piridin-2-ilamina (16,2 kg, 93,3 mol), acetonitrilo (130,8 l), yoduro cuproso (0,18 kg, 1,0 mol) y cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio (II) (0,66 kg, 0,9 mol) en una atmósfera de nitrógeno a 20 - 25 °C con agitación. Se añade trietilamina (19,7 l, 141,3 mol) y la mezcla se calienta a 30 - 35 °C. Se añade una solución de 1-etnil-2,4-difluoro-benceno (18,0 kg, 130,3 mol) en acetonitrilo (32,6 l) en una atmósfera de nitrógeno a 30 - 35 °C. La

mezcla se agita a 15 - 25 °C durante 2 - 4 h. Se añade tolueno (80,0 l) y la mezcla se agita durante 0,5 - 1 h, después se enfría hasta 0 - 5 °C y se agita durante 2 - 4 h. La mezcla de reacción se centrifuga y la torta del filtro se aclara con tolueno (2 x 64 l) y agua (2 x 32,4 l). Los sólidos se secan a presión reducida por debajo de 50 °C para formar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (21,7 kg, 83 %).

5 Preparación 37

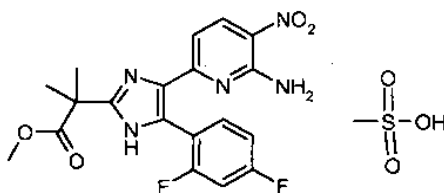
1-(6-Amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil)etano-1,2-diona



Se añaden 6-[2-(2,4-difluorofenil)etnil]-3-nitro-piridin-2-amina (2,0 kg, 7,3 mol) y acetona (40,5 l) a un reactor en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se enfría hasta 0 - 10 °C con agitación. Se añade una solución tamponante de agua (38,3 l), dihidrogenofosfato de sodio (3,3 kg) e hidrogenofosfato disódico (0,7 kg) a 0 - 15 °C. La mezcla se enfría hasta 3 - 6 °C y se carga con permanganato de potasio sólido (4,1 kg, 25,9 mol) a 3 - 6 °C. La mezcla se agita durante entre 3 h y 5 h, y después se transfieren porciones de la mezcla de reacción a un recipiente que contiene agua (9,3 l) y tiosulfato de sodio pentahidratado (3,6 kg) a 15 - 20 °C. La mezcla se agita a 15 - 25 °C. Se añade agua (50 l) y la mezcla se agita durante 0,5 - 1 h y se filtra. El filtrado se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C. Cuando se completa la destilación del disolvente, se añade agua (40 l) a 20 - 25 °C y la mezcla se agita durante 0,5 - 1 h. Los sólidos se recogen mediante filtración y la torta del filtro se seca por debajo de 40 °C para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,7 kg, 75 %).

Preparación 38

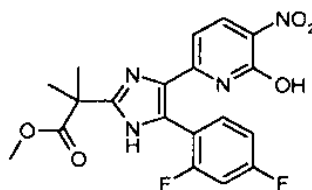
2-[4-(6-Amino-5-nitro-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato, metansulfonato de metilo



Se combinan acetato de amonio (30,0 kg, 389,2 mol), 1,4-dioxano (193,6 l) y 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo (10,2 kg, 78,4 mol) en una atmósfera de nitrógeno con agitación a 20 - 25 °C durante 0,5 - 1 h. Se añade 1-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-2-(2,4-difluorofenil) etano-1,2-diona (18,5 kg, 60,2 mol) y la mezcla se agita durante 10 - 14 h a 20 - 25 °C. Se añade tolueno (36,9 l) y la solución se concentra a presión reducida por debajo de 65 °C. Se añade tolueno (76,8 l) y después la solución se concentra a presión reducida por debajo de 65 °C. Se añaden tolueno (36,9 l) y acetato de etilo (37,1 l) y la mezcla se filtra. El filtrado se aparta y la torta del filtro se transfiere a un reactor individual y se añade acetato de etilo (37,1 l). La mezcla se calienta a 50 - 60 °C con agitación durante 20 - 30 min. La mezcla se enfría hasta 20 - 25 °C, se filtra y el filtrado se combina con el filtrado previo. Los filtrados combinados se concentran a presión reducida por debajo de 60 °C y se añade tolueno (76,8 l). La mezcla se concentra a presión reducida por debajo de 65 °C. Se añaden acetato de etilo (18,6 l) y tolueno (18,3 l) y la solución se calienta a 50 - 70 °C. Se añade ácido metansulfónico (4,3 l, 66,2 mol) en acetato de etilo (18,6 l) y la reacción se agita durante 1 - 2 h. La reacción se enfría hasta 10 - 25 °C y se agita durante 2 - 5 h. Los sólidos se recogen mediante filtración y la torta del filtro se lava con acetato de etilo (18,6 l) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo (17,0 kg, 96,2 % de pureza, 46,2 % de rendimiento). RMN ¹H (d₆-DMSO, 400 MHz) δ 1,69 (s, 6H), 2,36 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 6,89 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,00 (s, 1 H), 7,25 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,27 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 1,6 Hz), 7,45 (ddd, 1H, J = 10,0 Hz, 10,0 Hz, 2,4 Hz), 7,83 - 7,68 (m, 2 H), 8,40 (d, 1H, J = 8,8 Hz).

Preparación 39

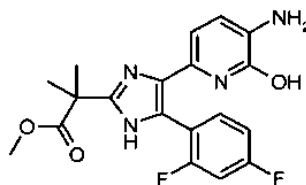
2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-(6-hidroxi-5-nitro-2-piridil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo



En una atmósfera de nitrógeno, se añaden 2-[4-(6-amino-5-nitro-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato, metansulfonato de metilo (68,9 g, 134,2 mmol), dimetilsulfóxido (275,5 ml), THF (116,2 ml) y agua (303,2 ml) y la mezcla se agita a 20 - 25 °C. A la mezcla de reacción se añade gota a gota ácido sulfúrico al 95 - 97 % (93,6 ml) y la temperatura se mantiene por debajo de 30 °C. La mezcla de reacción se enfría hasta 0 - 5 °C y se añade una solución de nitrato de sodio (18,6 g, 0,27 mmol) en agua (82,7 ml) a 0 - 10 °C. La mezcla de reacción se agita durante 1 - 2 h a esta temperatura. Se añade gota a gota dihidrogenofosfato de sodio acuoso al 10 % (930,0 ml) para mantener la temperatura por debajo de 25 °C. La mezcla resultante se agita durante 2 - 3 h a 15 - 25 °C, y los sólidos se recogen mediante filtración. La torta del filtro se lava con agua (138 ml) y los sólidos se transfieren a un recipiente de reacción. Se añade metanol y (566 ml) y la mezcla se calienta a 60 - 65 °C durante 1 - 2 h. Se añade agua (87 ml) y la mezcla se agita a 60 - 65 °C durante 1 - 2 h. La mezcla de reacción se enfría hasta 15 - 25 °C y la mezcla se agita a 15 - 25 °C durante 2 - 4 h. La mezcla se filtra, la torta se lava con metanol (87 ml) y se seca a vacío por debajo de 70 °C para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (53,28 g, 93 %).

15 Preparación 40

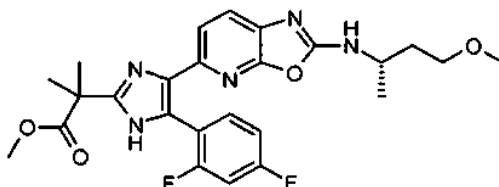
2-[4-(5-Amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo



Se combinan 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-(6-hidroxi-5-nitro-2-piridil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (90,0 g, 0,22 mol), Pd al 10 % / C húmedo (4,5 g) y metanol (1,77 l) a 15 - 25 °C. La reacción se agita bajo un atmósfera de hidrógeno a 20 - 25 psig durante 3 - 6 h. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra de diatomeas, y el medio filtrante se lava con metanol (227 ml). El filtrado se concentra a presión reducida por debajo de 40 °C y se añade metil *tert*-butil éter (729,3 ml). El MTBE se elimina a presión reducida por debajo de 40 °C, y se añade más metil *tert*-butil éter (729,3 ml). El MTBE se elimina a presión reducida por debajo de 40 °C. Se añaden metil *tert*-butil éter (182 ml) y metanol (46 ml) y la mezcla se calienta a 50 - 60 °C durante 1 - 2 h. La mezcla se enfría hasta 10 - 15 °C y se agita durante 2 - 4 h. Los sólidos se recogen mediante filtración y la torta del filtro se lava con metil *tert*-butil éter (61 ml). Los sólidos se secan a vacío por debajo de 50 °C para formar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (75,0 g, 88 %).

Preparación 41

2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazol[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo

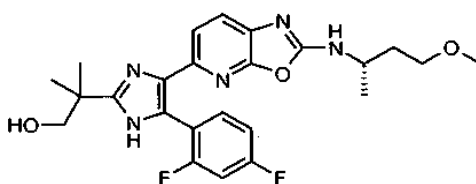


Se desgasifica dimetilsulfóxido (713 ml) con nitrógeno a 25 - 30 °C durante 0,5 - 1 h en una atmósfera de nitrógeno. Se añaden 2-[4-(5-amino-6-hidroxi-2-piridil)-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (35,0 g, 90,0 mmol) y (3S)-3-isotiocianato-1-metoxi-butano (19,58 g, 0,14 mol) y la reacción se calienta a 63 - 68 °C. La mezcla de reacción se agita durante 18 - 24 h a esta temperatura y después se añade en porciones clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (19,3 g, 100,7 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 2 - 4 h a 60 - 65 °C. Se añade clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida adicional (1,9 g, 9,9 mmol) si la reacción no alcanza una conversión completa. La mezcla de reacción se enfría hasta 20 - 30 °C y se filtra a través de tierra de diatomeas. Al filtrado se añaden acetato de etilo (351 ml) y agua (350 ml). Las capas se separan y la fase acuosa se

5 extrae con acetato de etilo (312 ml). Las capas orgánicas se combinan y se lavan con agua (2 x 210 ml), y después se añade heptano (626 ml). La solución se agita durante 0,5 - 1 h y se filtra sobre gel de sílice, aclarando con una mezcla de acetato de etilo (351 ml) y heptano (348 ml). La solución se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C y se añade acetato de etilo (156 ml). Se añade carbón activo (3,5 g) y la mezcla se calienta a 60 - 70 °C con agitación durante 0,5 - 1 h. La mezcla se enfría hasta 20 - 30 °C, se filtra y el filtrado se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C. Se carga tolueno (242 ml) en el residuo resultante y el material se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C. Se añade tolueno (40 ml) y la mezcla se calienta a 60 - 70 °C con agitación durante 0,5 - 1 h. La mezcla se enfría hasta 25 - 30 °C, se agita durante 2 - 4 h y después se enfría hasta 0 - 5 °C. La mezcla se agita a 0 - 5 °C durante 2 - 4 h y los sólidos se recogen mediante filtración. La torta del filtro se lava con tolueno (40 ml) y se seca a presión reducida por debajo de 60 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (33,0 g, 71 %).

Ejemplo 1

2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol



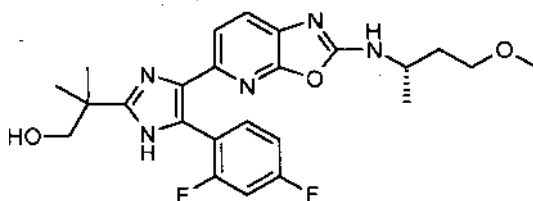
15 Se disuelve 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (497 mg, 0,99 mmol) en una mezcla de éter dietílico (5 ml) y THF (2,5 ml). La mezcla se enfría hasta 0 °C y se añade en porciones borhidruro de litio (45,6 mg, 1,99 mmol). La mezcla de reacción se agita a continuación a la TA en una atmósfera de nitrógeno durante 2 h. Se añade lentamente HCl 1 M hasta pH = 1 y la mezcla se agita durante 15 min a la TA. La mezcla se basifica con NaHCO₃ sólido y las capas se separan. La capa acuosa se extrae con diclorometano y las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran a presión reducida. El material en bruto se purifica mediante una cromatografía en fase normal (cartucho de gel de sílice de 40 g, 20 % de etanol en hexanos). Se obtiene un sólido de color marrón (298 mg), que se purifica adicionalmente mediante una cromatografía en fase inversa (columna XBRIDGE™ (5 µm, de 19 x 100 mm): gradiente de entre un 35 y un 38 % de acetonitrilo en una solución de carbonato de amonio en agua (pH = 9). Caudal de 25 ml/min) para proporcionar 193 mg (41 %) del compuesto del título. CL-ES / EM m/z 472 (M + 1). [α]_D²² + 33,79 ° (c = 0,72, metanol).

Ejemplo 1 Purificación alternativa

30 Se disuelve 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol 2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propanoato de metilo (50 g, 100,1 mmol) en una mezcla de éter dietílico (1 l) y THF (500 ml). La mezcla se enfría hasta 0 °C y se añade borhidruro de litio (4,36 g, 200,19 mmol). La mezcla de reacción se agita a la TA en una atmósfera de nitrógeno durante 2 h. Se añade lentamente HCl 1 M (600 ml) (evolución de gas) y la mezcla resultante se agita durante 1,5 h a la TA. Las capas se separan y la fase acuosa se extrae con metil *tert*-butil éter. La capa acuosa se basifica (pH = 8) mediante la adición de NaOH 2 M (200 ml) y se extrae con diclorometano (3 x 400 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran a presión reducida hasta una espuma de color marrón. El producto en bruto es eluído a través de una columna de gel de sílice (eluyente: diclorometano / NH₃ 3 N en metanol 95:5) para obtener el producto deseado en forma de una espuma de color violeta (35 g). El sólido se suspende en una mezcla de heptano / metil *tert*-butil éter 2:1 y se le aplican ultrasonidos. La suspensión se agita a la TA durante una noche. El sólido se filtra y se seca a vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino cristalino (30 g, 64 %). EM (m/z): 472 (M + 1).

Ejemplo 1: ruta alternativa de las Preparaciones 33 - 41

45 2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol



Se enfría 2-metiltetrahidrofurano (135 ml) a entre -5 y 0 °C bajo nitrógeno y se añade en porciones borhidruro de litio (4,95 g, 0,23 mol), manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C. Se añade en porciones una solución de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metilpropanoato de metilo (45,0 g, 0,09 mol) en 2-metiltetrahidrofurano (225 ml) a entre -5 y 0 °C y se agita durante 12 - 14 h. Se añade gota a gota ácido clorhídrico acuoso 2 M (203 ml) a entre -5 y 0 °C y la mezcla de reacción se calienta a 30 - 40 °C con agitación durante 1 - 2 h. La mezcla de reacción se enfría hasta 15 - 25 °C y las capas se separan. La fase orgánica se extrae con una mezcla de agua (135 ml) y ácido clorhídrico acuoso 2 M (45 ml), y la fase orgánica se desecha. Las capas acuosas se combinan y se añade gota a gota hidróxido de sodio acuoso al 25 % (75 ml) para ajustar hasta un pH = 8 - 9. La acuosa se extrae con diclorometano (225 ml) a la TA y las capas se separan. La porción orgánica se lava con agua (2 x 180 ml) y después se concentra a presión reducida por debajo de 40 °C. Se añade metil *tert*-butil éter (231 ml) y la solución se concentra a presión reducida por debajo de 40 °C, dos veces. Se añade acetato de etilo (101 ml) y la mezcla se calienta a 50 - 60 °C con agitación durante 1 - 2 h. La solución se enfría hasta 0 - 5 °C con agitación durante 2 - 4 h. Los sólidos se filtran y la torta del filtro se lava con heptano (66 ml). Los sólidos se transfieren a un recipiente de reacción, se añade acetato de etilo (181 ml) y después la mezcla se calienta a 70 - 75 °C con agitación durante 0,5 - 1 h. La mezcla se enfría hasta 50 - 60 °C y se añade gota a gota heptano (157 ml) y se agita durante 2 - 4 h. Después, la mezcla se enfría hasta 10 - 15 °C con agitación durante 2 - 4 h. Los sólidos se filtran y la torta del filtro se lava con heptano (66 ml). Los sólidos se transfieren a un recipiente de reacción y se añade acetato de etilo (406 ml). La mezcla se calienta a 60 - 75 °C con agitación durante 0,5 - 1 h. Después se enfría hasta 40 - 45 °C y se concentra a presión reducida por debajo de 45 °C para llegar a una solución con un volumen total de aproximadamente 200 ml. La mezcla se calienta a 70 - 75 °C con agitación durante 0,5 - 1 h, y después se enfría de nuevo hasta 50 - 60 °C. Se añade heptano (268 ml), seguido de cristales de siembra (2,25 g) (los cristales de siembra pueden generarse a partir de los sólidos obtenidos a partir de los lotes previos del producto del Ejemplo 1, o pueden obtenerse mediante el uso de otros métodos habituales para el experto en la materia, tales como la recristalización de una pequeña alícuota). La mezcla se agita a 50 - 60 °C durante 2 - 4 h. La mezcla se enfría hasta 10 - 15 °C y se agita durante 2 - 4 h. Los sólidos se recogen mediante filtración y la torta del filtro se lava con una mezcla de acetato de etilo (18 ml) y heptanos (16 ml). La torta se seca a presión reducida por debajo de 65 °C para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (27,5 g, 63 %). Método de HPLC: columna: ChiralPak® AD-H, 5 µm, de 4,6 x 250 mm; modo de elución: isocrático; fase móvil: hexano / isopropanol / dietilamina (92:8:0,1); caudal: 1,0 ml/min; detección UV: 337 nm. T_R = 22,6 min, 100 % de ee.

Compuesto del Ejemplo 1, difracción de rayos X en polvo (XRPD)

Los patrones de XRPD de los sólidos cristalinos se obtienen con un difractor de rayos X en polvo Bruker D4 Endeavor X, equipado con una fuente de CuKα λ = 1,54060 Å) y un detector Vantec que opera a 35 kV y a 50 mA. La muestra se escanea a entre 4 y 40° en 2θ, con un tamaño de etapa de 0,009° en 2θ y una velocidad de barrido de 0,5 segundos / etapa, y con una divergencia de 0,6 mm, una anti-dispersión fija de 5,28 y unas ranuras del detector a 9,5 mm. El polvo seco se empaqueta en un soporte de muestras de cuarzo y se obtiene una superficie lisa mediante el uso de un portaobjetos de vidrio. Los patrones de difracción de la forma cristalina se recogen a la temperatura y humedad relativa ambientales. En el caso actual, una variabilidad en la posición del pico de ± 0,2 en 2θ tendrá en consideración estas potenciales variaciones sin impedir la identificación unívoca de la forma cristalina indicada. La confirmación de una forma cristalina puede realizarse basándose en cualquier combinación única de los picos distintivos (en unidades de ° 2θ), normalmente los picos más prominentes. El patrón de difracción de la forma cristalina, recogido a la temperatura y humedad relativa ambientales, se ajusta basándose en los picos del patrón NIST 675 a 8,853 y a 26,774 grados 2-theta.

Tabla 1: picos de difracción de rayos X en polvo de la Forma I del Ejemplo 1

Posiciones de los picos			
Pico	ángulo (° 2-Theta) +/- 0,2 °	Intensidad relativa (% del pico más intenso)	Valor de d (angstroms)
1	15,06	100	5,88
2	19,94	85,5	4,45
3	10,31	60,8	8,57
4	20,78	60,4	4,27

45

(continuación)

5	17,91	59,9	4,95
6	19,25	40,1	4,61
7	16,16	39,3	5,48
8	9,33	35,7	9,47
9	21,86	31,5	4,06
10	26,61	27,7	3,35

5 Por lo tanto, la Forma I cristalina del 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazol-5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol de la presente invención puede ser caracterizada mediante un patrón de difracción por rayos X mediante el uso de radiación de CuK_α por tener unos picos de difracción (valores de 2-theta) según se describen en la Tabla 1, y en particular por tener unos picos a 15,06 junto con uno o más de los picos a 19,94, a 10,31 y a 20,78; y más particularmente por tener un pico a 15,06; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

10 Ejemplo 1 (base libre de la Forma II):

La base libre de la Forma II del Ejemplo 1 se prepara mediante la mezcla de 8,01 g de la base libre en un matraz de 125 ml con 100 ml de metil *tert*-butil éter para dar una suspensión de color marrón de un sólido. La muestra se suspende durante una noche a 300 rpm y a 50 °C. Después de 18 horas, la muestra es una suspensión de un sólido de color blanquecino bajo un sobrenadante de color rojo vino. La muestra se evapora para reducir el volumen hasta 15 aproximadamente la mitad, y el sólido de color blanquecino se recupera mediante una filtración a vacío. La torta resultante del sólido de color blanquecino se seca durante 2 horas en un horno de vacío a 65 °C. Se recuperan 7,15 g del sólido de (89 %).

Tabla 2: picos de difracción de rayos X en polvo de la Forma II del Ejemplo 1

Pico	Posiciones de los picos		
	ángulo (° 2-Theta) +/- 0,2 °	Intensidad relativa (% del pico más intenso)	Valor de d (angstroms)
1	13,73	100	6,45
2	16,54	67,6	5,35
3	22,87	66,5	3,89
4	18,57	62,2	4,77
5	20,80	37,4	4,27
6	17,47	37,2	5,07
7	15,30	34,3	5,79
8	12,36	31,2	7,16
9	12,87	29,4	6,87
10	9,61	22,3	9,20

20 Por lo tanto, la Forma II cristalina del 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazol-5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol de la presente invención puede ser caracterizada mediante un patrón de difracción por rayos X mediante el uso de radiación de CuK_α por tener unos picos de difracción (valores de 2-theta) según se describen en la Tabla 1, y en particular por tener unos picos a 13,73 junto con uno o más de los picos a 16,54, a 22,87 y a 18,57; y más particularmente por tener un pico a 13,73; con una tolerancia para los 25 ángulos de difracción de 0,2 grados.

Ejemplo 2

Metansulfonato de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazol-5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol

30 Se disuelve 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazol-5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol (37,5 mg, 0,080 mmol) en una mezcla 1:1 de diclorometano / metanol (1 ml en total). Se añade gota a gota una solución 0,5 M de ácido metansulfónico en metanol (0,16 ml). La mezcla se agita a la TA durante 30 min. El disolvente se evapora a presión reducida y el residuo resultante se tritura dos veces con *tert*-butil metil éter. El residuo se seca a vacío para proporcionar el compuesto del título (42 mg, 93 %). CL-ES / EM m/z 472 (M + 1).

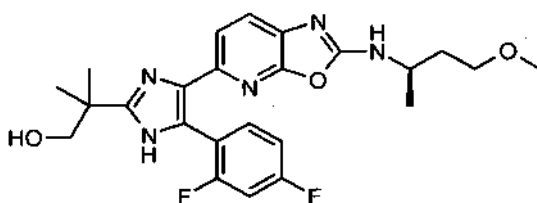
Ejemplo 3

Clorhidrato de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol

- 5 A una suspensión de color rosado de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol (25,7 g, 54,51 mmol) en metil *terc*-butil éter (771 ml) a 60 °C, se añade una solución de HCl 4,0 M en dioxano (16,35 ml, 65,41 mmol). La suspensión resultante se calienta a 60 °C durante 30 min y después se deja alcanzar gradualmente la TA. Se forma un sólido y se filtra en una atmósfera inerte de nitrógeno, y se recoge rápidamente y se seca a vacío a 60 °C durante una noche para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido cremoso (27 g, 98 %). CL-ES / EM m/z 472 (M + 1).

10 **Ejemplo 4**

2-[5-(2,4-Difluorofenil)-4-[2-[[[(1R)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol



- 15 El compuesto del título se prepara esencialmente mediante el uso de la misma ruta sintética que para su enantiómero S, con la diferencia de que en la Preparación 1 se usa (1R)-N-bencil-1-fenil-etanamina en lugar del enantiómero S. $[\alpha]_D^{22} -32,11^\circ$, (c = 0,54, metanol).

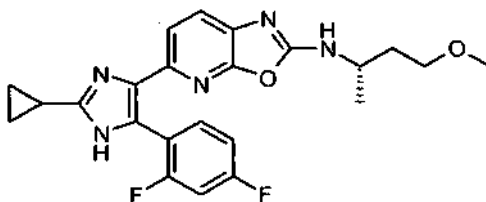
Ejemplo 5

Metansulfonato de 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1R)-3-metoxi-1-metilpropil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol

- 20 El compuesto del título se prepara mediante el uso de esencialmente el mismo procedimiento al descrito en el Ejemplo 2 para su enantiómero S.

Ejemplo 6

5-[2-Ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-N-[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]oxazolo[5,4-b]piridin-2-amina



- 25 Se carga un tubo KIMAX® con 3-amino-6-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]piridin-2-ol (0,7 g, 2,13 mmol) y etanol (7 ml), se añade (3S)-3-isotiocianato-1-metoxi-butano (0,46 g, 3,2 mmol), se precinta el matraz y la mezcla se calienta a 85 °C. Después de 16 h, se añade N,N'-diciclohexilcarbodiimida (0,88 g, 4,26 mmol) y la mezcla se agita durante 4 h a 85 °C en el tubo precintado. Después de este tiempo se añade N,N'-diciclohexilcarbodiimida adicional (0,44 g, 2,13 mmol) a la mezcla. Se continúa el calentamiento a 85 °C durante una noche. Después de este tiempo, se añade N,N'-diciclohexilcarbodiimida adicional (0,88 g, 4,26 mmol) a la mezcla, y se continúa el calentamiento a 85 °C durante 4 h. El bruto de la reacción se concentra a presión reducida, y el residuo se purifica mediante una cromatografía en fase normal (cartucho de gel de sílice de 120 g, gradiente de diclorometano - etanol). Las fracciones que contienen el compuesto deseado se purifican adicionalmente mediante una semipreparativa de alto rendimiento en fase inversa (CL / EM) mediante el uso de una columna XBRIDGE™ (5 μm, de 19 x 100 mm) y un programa en isocrático de un 36 % de acetonitrilo en NH₄HCO₃ 20 mM (pH 9), en 5 min a un caudal de 25 ml/min para proporcionar el compuesto del título (0,15 g, 16 %). CLES / EM m/z 440 (M + 1); $[\alpha]_D^{22} +58,60^\circ$, (c = 0,50, metanol).
- 30
- 35

se filtran y se concentran a presión reducida. El residuo se purifica mediante una cromatografía en fase normal (cartucho de gel de sílice de 120 g) mediante el uso de un gradiente de hexano - etanol para proporcionar el compuesto del título (0,56 g, 60 %). CL-ES / EM m/z 470,2 (M + 1); $[\alpha]_D^{22}$ -18,00 °, (c = 0,50, MeOH); $[\alpha]_D^{22}$ -18,0 °, (c = 0,50, CHCl₃).

5 Ejemplo 11

Metansulfonato de [1-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-2-etoxi-1-metil-etil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]ciclopropil] metanol

Se disuelve [1-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-2-etoxi-1-metiletil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]ciclopropil] metanol (0,56 g, 1,19 mmol) en una mezcla 1:1 de diclorometano / metanol (12 ml en total). A la solución se añade gota a gota una solución 0,5 M de ácido metansulfónico en metanol (2,37 ml). La mezcla se agita a la TA durante 30 min y después el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se mezcla con metanol y se concentra dos veces para proporcionar el compuesto del título (0,64 g, 96 %). CL-ES / EM m/z 470,1 (M + 1).

Ensayos biológicos

Los siguientes ensayos demuestran que los compuestos ejemplificados de la presente invención son potentes inhibidores de la señalización de la cinasa MAP p38 α , son potentes inhibidores de la cinasa MAP p38 β y son potentes inhibidores de la cinasa MAP p38 en células cancerosas. Los siguientes ensayos también demuestran que el Ejemplo 1 o las sales del Ejemplo 1 (Ejemplos 2 o 3) tienen una potente actividad *in vivo*, y son eficaces agentes antineoplásicos ya sea solos y/o junto con otros agentes oncolíticos.

Inhibición de la actividad de la enzima cinasa MAP p38 α

20 Preparación de los reactivos:

El tampón de la reacción de la cinasa se prepara en forma de una solución madre que contiene 1.440 μ l de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetansulfónico (HEPES) 1 M a pH 7,5, 240 μ l de MgCl₂ 1 M, 72 μ l de ditioneitol 1 M (DTT), 25 μ l de TRITON® X-100 al 10 %, 43.223 μ l de H₂O. La mezcla de sustrato se prepara mediante la combinación de los siguientes: 2.775 μ l de tampón de la reacción de la cinasa, 75,0 μ l de trifosfato de adenosina (ATP) a 10 mM, 270 μ l de péptido EGFR (Upstate Biotechnology / Millipore) a 4 mM (9,17 mg/ml) y 12,5 μ l de ³³P-ATP. La solución madre de la enzima cinasa MAP p38 se prepara mediante la dilución de una solución de 0,1 mg/ml de cinasa MAP p38 α humana purificada en 3.000 μ l de tampón de reacción. Las soluciones madre de los compuestos de ensayo se generan mediante la disolución de los compuestos en dimetilsulfóxido al 100 % (DMSO) a 10 mM. Se generan placas de dilución madre a 100 μ M mediante la dilución de 2 μ l de la solución madre 10 mM en 198 μ l de DMSO al 20 %. Las diluciones 1:3 en DMSO al 20 % se generan a partir de la solución madre 100 μ M mediante el uso de un manipulador de líquidos Tecan.

Ensayo de la cinasa:

Para el ensayo de la cinasa se transfieren 5 μ l del compuesto diluido a la placa de reacción, seguido de 10 μ l de la solución madre de la enzima (añadidos mediante el uso de un dispensador de líquidos MULTIDROP®). Para iniciar la reacción se añaden 10 μ l de mezcla de sustrato con un MULTIDROP® y la placa se agita durante 30 segundos. Las condiciones finales de reacción son como sigue: HEPES 25 mM a pH 7,5, MgCl₂ 4,25 mM, DTT 1,30 mM, TRITON® X-100 al 0,004 %, ATP 100 μ M, péptido EGFR 100 μ M, cinasa MAP p38 α 11,8 nM y DMSO al 4 %. La reacción se incuba a la TA durante 60 minutos y después se detiene mediante la adición de 75 μ l de ácido acético al 5 % (recién preparado). Después de la detención se transfieren 100 μ l de la mezcla de reacción a una placa de filtro de fosfo celulosa (Millipore, NAPH) que se ha lavado previamente con 100 μ l de ácido acético al 0,5 %. La mezcla de reacción se incuba en la placa de fosfo celulosa durante 30 minutos, se filtra mediante el uso de un colector de vacío y se lava una vez con 300 μ l y después dos veces con 200 μ l de ácido ortofosfórico al 0,5 %. Después de las etapas de lavado se añaden 80 μ l de MICROSCINT™20 y se mide la radioactividad con una Trilux MICROBETA®. Los valores de la CI₅₀ se calculan mediante el uso del programa informático Activity Base (IDBS). Todos los compuestos ejemplificados tienen una CI₅₀ menor de 0,050 μ M. Por ejemplo, el Ejemplo 1 tiene una CI₅₀ = 0,003 μ M. Este ensayo demuestra que el compuesto del Ejemplo 1 es un potente inhibidor de la cinasa MAP p38 α .

Inhibición de la actividad de la enzima cinasa MAP p38 β

Preparación de los reactivos:

El tampón de la reacción de la cinasa se prepara esencialmente como se ha descrito anteriormente. La mezcla de sustrato se prepara mediante la combinación de los siguientes: 2.840 μ l de tampón de reacción de la cinasa, 15,0 μ l de ATP a 10 mM, 125 μ l de péptido EGFR a 4 mM (9,174 mg/ml), 18,75 μ l de ³³P-ATP. La solución madre de la enzima cinasa MAP p38 β se prepara mediante la dilución de 2,25 μ l de una solución de 0,57 mg/ml de cinasa MAP p38 β comercial (Upstate Biotechnology / Millipore) en 2.000 μ l de tampón de reacción. Las soluciones madre de los compuestos de ensayo se generan esencialmente como se ha descrito anteriormente.

Ensayo de la cinasa:

El ensayo de la cinasa se lleva a cabo esencialmente según se ha descrito para la cinasa MAP p38 α . Las condiciones finales de reacción son como sigue: HEPES 25 mM a pH 7,5, MgCl₂ 4,25 mM, DTT 1,30 mM, TRITON® X-100 al 0,004 %, ATP 20 μ M, péptido EGFR 65 μ M, 0,25 ng/ μ l de cinasa MAP p38 β , DMSO al 4 %. Todos los compuestos ejemplificados tienen una CI₅₀ menor de 0,050 μ M. Por ejemplo, el Ejemplo 1 tiene una CI₅₀ = 0,007 μ M. Este ensayo demuestra que el compuesto del Ejemplo 1 es un potente inhibidor de la cinasa MAP p38 β .

Inhibición de la cinasa MAP p38 en el ensayo basado en células

Se ensaya la inhibición de la cinasa MAP p38 en células HeLa mediante la medición de los niveles de la p-MAPKAPK2 después de la estimulación con TNF α en presencia del compuesto de ensayo. Se cultivan células HeLa humanas (ATCC) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (medio DMEM) que contiene un 10 % de suero bovino fetal (FBS, GIBCO). Los compuestos de ensayo se preparan en una serie de diluciones a 1:3 en medio de cultivo celular con una concentración final de DMSO del 0,1 %. Para el ensayo se colocan 60.000 células por pocillo en 100 μ l de medio DMEM que contiene un 10 % de suero bovino fetal en una placa de 96 pocillos de poli-D-lisina. Las células se incuban durante una noche a 37 °C en una estufa de incubación con un 5 % de CO₂. Al día siguiente las placas se invierten para desechar el medio y se añaden 90 μ l de medio reciente que contiene bien DMSO (pocillos de control) o bien la serie de diluciones del compuesto de ensayo. Las placas se incuban durante 1 hora a 37 °C en presencia de un 5 % de CO₂. Después de 1 hora se añaden 20 μ l de una solución de 100 ng/ml de TNF α humano (elaborada en DMEM / FBS) a los pocillos, para dar una concentración final de 18,2 ng/ml. Todos los pocillos se tratan con TNF α , excepto los pocillos de control de señal mínima, que no reciben el TNF α . Las células se incuban con el TNF α durante 15 minutos (a 37 °C / 5 % de CO₂) con objeto de estimular la fosforilación de la MAPKAPK-2, el sustrato de la cinasa MAP p38.

Para el ensayo de cELISA se retira el medio mediante la inversión de la placa. Las células se fijan mediante la adición de fijador PREFER® (Anatech Ltd) durante 30 minutos a la TA. Las células se lavan tres veces durante 5 minutos cada vez con 100 μ l de solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contiene un 0,1 % de TRITON® X-100 (esta mezcla se identifica como PBST). Se añaden 100 μ l de H₂O₂ al 0,6 % en PBST a las células durante 15 minutos para inactivar la peroxidasa, seguido de nuevo por un lavado tres veces durante 5 minutos cada vez con PBST. Las células se bloquean mediante la adición de una solución de albúmina sérica bovina al 5 % (BSA) a la TA durante 1 hora. Las células se lavan tres veces durante 5 minutos cada vez con PBST. Las células se incuban con una dilución de 1/1.000 del anticuerpo primario dirigido contra la Thr334 de la p-MAPKAPK-2 (Cell Signaling) en PBST que contiene BSA al 5 % a 4 °C durante una noche. Las células se lavan tres veces durante 5 minutos cada vez con PBST. Las células se tratan con el anticuerpo secundario, un anticuerpo de Ig anti-conejo conjugado con peroxidasa (Amersham), a una dilución de 1/1.000 en PBST con BSA al 5 % durante 1 hora a la TA. Las células se lavan tres veces durante 5 minutos cada vez con PBST.

Para la detección de la señal se usa un SUPERSIGNAL® ELISA femto kit (Pierce). Se mezclan partes iguales de Femto luminal / potenciador y peroxidasa antes de su uso. Se añaden 100 μ l de la mezcla a cada pocillo y se agitan durante 1 minuto mediante el uso de un mezclador de microplacas. Se determinan las unidades de luz relativas mediante el uso de un luminómetro Víctor 1420. Los valores relativos de la CI₅₀ se determinan mediante el uso del programa informático Activity Base (IDBS). Todos los compuestos ejemplificados tienen una CI₅₀ menor de 0,050 μ M. Por ejemplo, el Ejemplo 1 tiene una CI₅₀ = 0,0016 μ M. Este ensayo demuestra que el compuesto del Ejemplo 1 es un potente inhibidor de la señalización de la cinasa MAP p38 en células cancerosas.

Inhibición del objetivo *in vivo* (IVTI) de la cinasa MAP p38 en ratones C57BL/6 sin tratamiento previo

La IVTI de la cinasa MAP p38 se mide en linfocitos mononucleares de sangre periférica (PBMC) de ratones a los que se les ha administrado por vía oral el compuesto de ensayo mediante el uso de un ensayo de citometría de flujo para la p-MAPKAPK2, un sustrato de la cinasa MAP p38.

45 Fase en vivo:

Se distribuyen aleatoriamente ratones macho C57BL/6 (de 6 - 8 semanas de edad) en grupos de 4. El compuesto de ensayo es administrado mediante una sonda oral en un volumen de vehículo de 0,1 ml (hidroxietil celulosa al 1 % (HEC), TWEEN® 80 al 0,25 %, antiespumante al 0,05 %). A los animales de control se les administran 0,1 ml de vehículo sin el compuesto de ensayo. Para los estudios de dosis única y de respuesta a la dosis, los animales son sacrificados 2 horas después de la dosis. Para los estudios de evolución temporal, los animales son sacrificados en diferentes puntos temporales después de la dosis, normalmente, a las 1, 2, 4, 6, 18 y 24 horas. Se recoge sangre completa en tubos recubiertos con EDTA (AQUISEL).

Detección de la Fosfo-MAPKAPK2 en los PBMC mediante citometría de flujo:

55 Se añaden 100 μ l de sangre completa de ratón a cada tubo de EDTA y se incuban a 37 °C durante 10 minutos. Se prepara una mezcla de tres anticuerpos a las siguientes diluciones en tinción / tampón de lavado: mAb Ly-6G anti-ratón de rata conjugado con FITC (BD Biosciences) a 1:25; mAb CD11b anti-ratón de rata conjugado con APC (BD Biosciences) a 1:10; y BD Fc Block de ratón (BD Biosciences) a 1:100. Se elabora una solución madre de

anisomicina (Sigma) a una concentración de 5 mg/ml en DMSO. Se introduce una alícuota de 15 µl de la solución madre de anisomicina en tubos individuales y se almacena a -20 °C para un uso individual. El día del ensayo, la anisomicina se diluye a partir de la solución madre (5 mg/ml) hasta 100 µg/ml en tinción / tampón de lavado (BD). Se mezcla un volumen igual de anisomicina diluida con la mezcla de anticuerpos.

- 5 Se añaden 20 µl de la mezcla anterior en cada tubo con sangre completa, un tubo cada 20 s. La muestra se incuba a 37 °C durante 15 minutos en una termomezcladora con una agitación suave. Se diluye tampón de lisis / fijación (BD Biosciences) 5x en agua y se calienta hasta 37 °C. Se añaden 1,6 ml del tampón de lisis / fijación diluido (= 1X concentración de trabajo) a cada tubo, un tubo cada 20 s, en la misma secuencia que anteriormente. Las muestras se incuban a 37 °C durante 10 minutos con agitación. Después las células se rotan a 600 x g durante 8 minutos a la
- 10 TA. Las células se lavan una vez con 3 ml de tinción / tampón de lavado, PBS y FBS al 5 % descomplementado (inactivado por calor). El sobrenadante se desecha cuidadosamente para evitar la pérdida de los sedimentos celulares. Se diluyen conjuntamente el anticuerpo Anti-Fosfo-MAPKAPK-2 (Thr334) (Cell Signaling Technology, clon 27B) y Fc block de ratón en medio de permeabilización B (Caltag) (dilución de 250 x para ambos). Se usan 200 µl de la mezcla de anticuerpos diluida para resuspender las células.
- 15 Entonces las células se incuban a la TA durante 30 minutos. Después se añaden 3 ml de tinción / tampón de lavado y las células se rotan como se ha descrito anteriormente. El lavado se repite con 3 ml de tinción / tampón de lavado. Se diluye conjugado de F(ab')₂ de inmunoglobulina anti-conejo de cabra-PE (Biosource) en tinción / tampón de lavado (dilución a 250 x). Después se añaden 200 µl del anticuerpo diluido a cada tubo.

- 20 Las muestras se incuban a la TA durante 30 minutos. Después se añaden 3 ml de tinción / tampón de lavado y las células se rotan. El lavado se repite con 3 ml de tinción / tampón de lavado. Finalmente, las células se resuspenden en 250 µl de PBS más un 1 % de FBS descomplementado (inactivado por calor). Las muestras se analizan mediante una citometría de flujo (FACScaliber, BD). Después de definir la población de células individuales viables mediante una dispersión lateral y anterógrada, se mide el nivel de la p-MAPKAPK2 en la población de monocitos definida (clasificada) mediante CD11b^{hi}Ly6G⁻.

- 25 **Análisis de los datos:**

Se analiza la intensidad de la fluorescencia mediana en los monocitos para determinar el nivel de la p-MAPKAPK2. Se usa el nivel de la p-MAPKAPK2 (pMK2) en los monocitos estimulados con anisomicina menos los no estimulados a partir de los animales de control con vehículo para la determinación de la ventana de señal. El porcentaje de inhibición por parte del compuesto de ensayo se determina mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \frac{100 \times (\text{pMK2 en estimulados} - \text{pMK2 en no estimulados en los animales con el compuesto})}{(\text{pMK2 en estimulados} - \text{pMK2 en no estimulados en los animales con el vehículo})}$$

- 30 Mediante el uso de este protocolo, la dosis eficaz umbral para una inhibición del 70 % (TED₇₀) para el compuesto del Ejemplo 1 es de 5,1 mg/kg 2 horas después de la dosis. La concentración eficaz umbral para una inhibición del 70 % (TEC₇₀) determinada mediante la medición del compuesto en circulación en plasma en el mismo ensayo es de 39,4 ng/ml (0,084 µM) 2 horas después de la dosis. Este ensayo demuestra que el compuesto del Ejemplo 1 tiene una
- 35 potente actividad *in vivo*.

Inhibición *in vivo* de la cinasa MAP p38 en ratones portadores de tumores

Se usa un modelo de xenoinjerto murino que utiliza la línea celular tumoral humana U87MG para la evaluación de la inhibición de la cinasa MAP p38 en tumores

Fase en vivo:

- 40 A ratones lampiños atímicos hembra (de 24 - 26 g, Harlan) se les inyectan por vía subcutánea en el costado posterior 5 x 10⁶ células U87MG por animal. Las células se inyectan en un volumen de 0,2 ml con una mezcla 1:1 de medio de cultivo celular y matriz BD MATRIGEL™. 7 días después del implante se miden los tumores mediante el uso de un calibre y se registran los datos. A partir de entonces los tumores se miden dos veces por semana y se registra el tamaño del tumor. Cuando los tumores alcanzan un volumen medio de aproximadamente 250 mm³
- 45 (habitualmente 10 - 15 días después del implante), los animales se distribuyen aleatoriamente en grupos de 8 - 10 para el tratamiento. Después a los animales se les administran por vía oral 0,2 ml de vehículo (HEC al 1 %, TWEEN® 80 al 0,25 %, antiespumante al 0,05 %) solo o de vehículo que contiene el compuesto de ensayo. 2 horas después de la dosis se sacrifican los animales. Los tumores se extraen y se procesan inmediatamente mediante una homogeneización en una solución de TRITON® X-100 al 1 % con un cóctel de proteasa completa y de
- 50 inhibidores de la fosfatasa (comprimidos completos Roche Standard, cóctel inhibidor de la proteasa exento de EDTA, número de catálogo 11873580001). Además, se recoge sangre en tubos recubiertos con ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) y se genera plasma en un formato de placa de 96 pocillos para los análisis de exposición.

Ensayo de la p-MAPKAPK2 en lisados tumorales:

Los niveles de la p-MAPKAPK2 en los lisados tumorales se determinan mediante el uso de un kit Mesoscale Discovery (MSD) capture ELISA (2 Fosfo-MAPKAPK-2 (Thr334)). La concentración de la proteína en los lisados se determina mediante el uso de un kit de ensayo de proteínas BioRad DC (BioRad). Las muestras de proteínas de cada lisado tumoral se ajustan a 2 mg/ml mediante el uso de una solución de TRITON® X-100 al 1 %. Para la detección de mesoescala de la p-MAPKAPK2 se añaden 50 µg del lisado tumoral a una placa de 96 pocillos que contiene un electrodo de carbono, previamente punteada con el anticuerpo de captura (= anticuerpo contra la proteína MAPKAPK2 total). Se sondea el nivel de la p-MAPKAPK2 mediante el uso de un anticuerpo de detección anti p-MAPKAPK2 marcado con rutenio. Después de la incubación con el anticuerpo de detección, se lava la placa MSD, seguido de la adición de tampón de lectura de MSD. Después del paso de corriente a través del electrodo, la electro-quimioluminiscencia da como resultado la producción de luz, que es cuantificada mediante el uso del instrumento MSD Sector 6000. Para cada estudio se calcula la inhibición porcentual relativa al grupo de control con vehículo, y se lleva a cabo un análisis de la ANOVA (medio para calcular el análisis estadístico de la varianza) mediante el uso del paquete informático JMP para la determinación de la significación estadística. El análisis se confirma mediante inmunotransferencias en estudios representativos. A partir de este estudio se determina que el compuesto del Ejemplo 1 tiene una TED₇₀ para la inhibición del objetivo cinasa MAP p38 en tumores de 2,9 mg/kg, y la TEC₇₀ es de 31,3 ng/ml. Estos datos demuestran que, para el compuesto del Ejemplo 1, la potencia de inhibición del objetivo es similar tanto en el tumor como en los PBMC.

Determinación de la eficacia *in vivo* en modelos de xenoinjerto

20 Modelo de xenoinjerto A2780:

Se obtienen ratones hembra CD1 nu/nu en Charles River Laboratories de aproximadamente 22 - 25 g. Después de 1 semana de aclimatación, se inyectan por vía subcutánea 2 x 10⁶ células de carcinoma de ovario humano A2780 en el costado posterior de cada ratón en un volumen de 0,2 ml en una mezcla 1:1 de medio de cultivo celular y matriz BD MATRIGEL™. El tamaño del tumor se controla mediante una medición con calibre dos veces por semana. Cuando el tamaño medio del tumor alcanza 150 mm³, los animales son distribuidos aleatoriamente en grupos de 10. El tratamiento con el inhibidor de la cinasa MAP p38 se inicia después de la distribución aleatoria. El Ejemplo 2 se administra por vía oral en un volumen de 0,2 ml de HEC al 1 %, TWEEN® 80 al 0,25 %, antiespumante al 0,05 % (HEC / TWEEN®). El compuesto se administra a unas dosis de 1, 3 y 10 mg/kg. La dosificación se lleva a cabo tres veces al día (TID) sobre un programa de 4 días con, 3 días sin. Se llevan a cabo tres ciclos de dosificación. El volumen del tumor se controla dos veces por semana durante el periodo de dosificación y se controla la eficacia (inhibición del crecimiento tumoral) con respecto al grupo de control con vehículo (n = 10 animales). A las 1, 2 y 8 horas después de la última dosis del inhibidor de la cinasa MAP p38, se obtiene plasma de los animales para determinar los niveles en circulación del compuesto en los animales.

Grupos de tratamiento (PO, TID, 4 días con, 3 días sin, 4 ciclos) (mg/kg)	Inhibición del crecimiento tumoral (%)				Concentración plasmática media (µM) en el momento (hora) después de la última dosis		
	Día 20	Día 23	Día 26	Día 29 (final)	1	2	3
1	70,6	76,6	76	78,3	0,0263	0,0146	BQL < (1,00)
3	32,5	47,7	42,7	37,7	0,0526	0,0604	0,0042
10	60	71,2	72,8	74,8	0,4952	0,3978	0,0243

35 Modelo de xenoinjerto de mieloma múltiple OPM-2:

Se obtienen ratones SCID hembra CB-17 en Taconic con un peso de 20 - 22 g. Después de una aclimatación durante una semana, los ratones son irradiados con una dosis de 2,5 Gray. En las 24 horas posteriores a la irradiación, a los ratones se les inyectan por vía subcutánea en el costado posterior 1,0 x 10⁷ células OPM-2 en un volumen de 0,2 ml en una mezcla 1:1 de medio de cultivo celular y matriz BD MATRIGEL™. El volumen del tumor se controla mediante una medición con calibre dos veces por semana. Cuando el volumen del tumor alcanza 100 - 150 mm³, los animales son distribuidos aleatoriamente en grupos de dosificación. El tratamiento con el compuesto se inicia después de la distribución aleatoria. El Ejemplo 2 se administra por vía oral en un volumen de 0,2 ml de HEC al 1 %, TWEEN® 80 al 0,25 %, antiespumante al 0,05 % (HEC / TWEEN®). El compuesto se administra a unas dosis de 15 y de 30 mg/kg. La dosificación se realiza dos veces al día (BID) durante 28 días de tratamiento. El volumen del tumor se controla dos veces por semana durante el periodo de dosificación y se controla la eficacia (inhibición del crecimiento tumoral) con respecto al grupo de control con vehículo (n = 10 animales).

Nombre del grupo:	HEC / TWEEN, 0,2 ml, PO, BID				Ejemplo 2, 15 mpk, PO, BID				Ejemplo 2, 30 mpk, PO, BID			
	Número de ratones	Tamaño medio del tumor (mm ³)	SE	Sig nif.	Número de ratones	Tamaño medio del tumor (mm ³)	SE	Sig nif.	Número de ratones	Tamaño medio del tumor (mm ³)	SE	Sig nif.
4	10	102,8	20,84	Ctrl	9	101,69	18,94	NS	9	97,8	16,77	NS
8	10	88,54	17,95	Ctrl	9	87,96	16,38	NS	9	90,78	15,57	NS
11	10	141,58	28,7	Ctrl	9	104,9	19,54	NS	9	118,46	20,32	NS
15	10	132,95	26,95	Ctrl	8	104,21	19,65	NS	9	95,34	16,35	NS
18	10	161,01	32,64	Ctrl	8	120,17	22,83	NS	9	103,71	17,79	*
21	10	211,27	42,83	Ctrl	8	182,47	34,89	NS	9	115,16	19,75	**
25	10	233,07	47,25	Ctrl	8	169,53	32,63	NS	9	155,27	26,63	NS
29	10	289,92	58,77	Ctrl	8	214,28	41,47	NS	9	154,83	26,56	**
33	10	464,75	94,21	Ctrl	8	326,29	63,41	NS	9	224,14	38,45	**
36	10	635,98	128,92	Ctrl	8	384,59	74,93	*	9	243,32	41,74	***
43	10	875,15	177,41	Ctrl	8	628,46	123,01	NS	9	407,07	69,82	***
46	9	1162,28	237,09	Ctrl	8	700,62	137,33	*	9	527,14	90,42	***
49	8	1238,92	256,05	Ctrl	8	937,29	183,95	NS	9	642,22	110,16	**
53	8	1437,56	301,51	Ctrl	8	1138,19	223,68	NS	9	812,48	139,37	*

Modelo de xenoinjerto 786-O en combinación con sunitinib:

Se obtienen ratones lampiños atímicos hembra de Harlan Labs con un peso de 24 - 26 g. Después de 1 semana de aclimatación, se inyectan por vía subcutánea 5×10^6 células de carcinoma renal humano 786-O en el costado posterior de cada ratón en un volumen de 0,2 ml en una mezcla 1:1 de medio de cultivo celular y matriz BD MATRIGEL™. El volumen del tumor se controla mediante una medición con calibre dos veces por semana. Cuando el volumen medio del tumor alcanza 150 - 200 mm³, los animales son distribuidos aleatoriamente en grupos de 8 - 10. El tratamiento con el inhibidor de la cinasa MAP p38 se inicia después de la distribución aleatoria. El compuesto se administra por vía oral en un volumen de 0,2 ml de HEC al 1 %, TWEEN® 80 al 0,25 %, antiespumante al 0,05 % (HEC / TWEEN®). La dosificación se realiza dos veces al día (BID) a 15 mg/kg bien solo o bien junto con 10 mg/kg o 20 mg/kg de sunitinib, que también se administra por vía oral BID en el mismo vehículo. El volumen del tumor se controla dos veces por semana y se compara la eficacia (inhibición del crecimiento tumoral) con respecto a los animales de control tratados con vehículo.

nº de grupo	Grupos de tratamiento (PO, BID x 28)	Número de sujetos	% de inhibición del crecimiento tumoral				
			Día 17	Día 21	Día 24	Día 28	Día 31
1	HEC / TWEEN®, 0,2 ml HEC / TWEEN® 0,2 ml	10	0	0	0	0	0
2	Ejemplo 3 15 mg/kg HEC / TWEEN® 0,2 ml	8	-35,5	-23	-52,4	-74,1 *	-58,8 *
3	Sunitinib 10 mg/kg HEC / TWEEN® 0,2 ml	8	-1,6	2,9	-16,3	-21,2	-27,7
4	Sunitinib 20 mg/kg HEC / TWEEN® 0,2 ml	8	-55,9	31,5	18	34,5	35,4 *
5	Ejemplo 3 15 mg/kg Sunitinib 10 mg/kg	8	-31,3	9,8	-14,9	-23,2	-0,4
6	Ejemplo 3 15 mg/kg Sunitinib 20 mg/kg	8	69,4 *	96,8 *	89 *	99,1 *	97,5 *

* estadísticamente significativo en comparación con el vehículo.

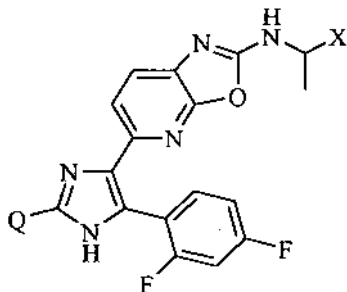
Los datos de este estudio demuestran que la inhibición de la cinasa MAP p38 (15 mg/kg BID) potencia la eficacia antitumoral del sunitinib administrado a 20 mg/kg. La evaluación estadística de la sinergia se realizó mediante el uso del análisis de la variancia bidireccional de mediciones repetidas del log del volumen del tumor frente al tiempo. Este análisis demostró la significativa sinergia global ($p > 0,0001$) entre 15 mg/kg BID del inhibidor de la cinasa MAP p38 y 20 mg/kg BID de sunitinib.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente en forma de composiciones farmacéuticas administradas mediante diversas vías. Más preferiblemente, dichas composiciones son para una administración por vía oral o intravenosa. Dichas composiciones farmacéuticas y los procesos para la preparación de las mismas son bien conocidos en la materia. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (D. Troy, et al., eds., 21ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005).

Los compuestos de la presente invención son generalmente eficaces a lo largo de un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosis diarias están normalmente en el intervalo de aproximadamente 14 - 155 mg. En algunos casos pueden ser más adecuados unos niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado anteriormente, mientras que en otros casos pueden emplearse unas dosis aún mayores sin provocar ningún efecto secundario perjudicial, y por lo tanto el intervalo de dosificación anterior no pretende limitar el ámbito de la invención en modo alguno. Se entenderá que la cantidad de compuesto administrada realmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que se va a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos reales administrados, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



en la que:

- 5 X es metoxietilo o etoximetilo;
Q es ciclopropilo, 2-metil-propanol-2-ilo, 3-metiloxetan-3-ilo, 1-hidroximetil-1-ciclopropilo;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que es 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol cristalino **caracterizado por** el patrón de difracción de rayos X en polvo (radiación de Cu, $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) que comprende un pico a 15,06, y uno o más picos a 19,94, a 10,31 y a 20,78 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
- 15 4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que es 2-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]-2-metil-propan-1-ol cristalino **caracterizado por** el patrón de difracción de rayos X en polvo (radiación de Cu, $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) que comprende un pico a 13,73, y uno o más picos a 16,54, a 22,87 y a 18,57 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
- 20 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es 5-[2-ciclopropil-5-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-N-[[[(1S)-3-metoxi-1-metil-propil]oxazolo[5,4-b]piridin-2-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es 5-[5-(2,4-difluorofenil)-2-(3-metiloxetan-3-il)-1H-imidazol-4-il]-N-[(S)-3-metoxi-1-metilpropil]oxazolo[5,4-b]piridin-2-amina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es [1-[5-(2,4-difluorofenil)-4-[2-[[[(1S)-2-etoxi-1-metil-etil]amino]oxazolo[5,4-b]piridin-5-il]-1H-imidazol-2-il]ciclopropil] metanol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 junto con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende adicionalmente uno o más agentes terapéuticos.
- 30 10. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 1 a 7 para su uso en terapia.
11. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento del cáncer.
12. Un compuesto o una sal para su uso de acuerdo con la reivindicación 11 en el que el cáncer es cáncer de ovario.
- 35 13. Un compuesto o una sal para su uso de acuerdo con la reivindicación 11 en el que el cáncer es mieloma múltiple.
14. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en una combinación simultánea, por separado o secuencial con sunitinib en el tratamiento del cáncer.
15. Un compuesto o una sal para su uso de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el cáncer es cáncer renal.