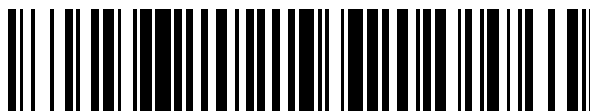


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 972**

51 Int. Cl.:

A61K 31/416 (2006.01) **A61P 31/16** (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/5386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2011 PCT/EP2011/065417**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.03.2012 WO12032065**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2011 E 11755310 (7)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2613781**

54 Título: **Derivados de indazol para su uso en el tratamiento de infección por virus de la gripe**

30 Prioridad:

08.09.2010 US 380752 P

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

23.02.2017

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY
 DEVELOPMENT LIMITED (100.0%)
 980 Great West Road
 Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**BALDWIN, IAN ROBERT;
 DOWN, KENNETH DAVID;
 FAULDER, PAUL;
 GAINES, SIMON;
 HAMBLIN, JULIE NICOLE;
 HARRISON, ZOE ALICIA;
 JONES, KATHERINE LOUISE;
 JONES, PAUL SPENCER;
 KEELING, SUZANNE ELAINE;
 LE, JOELLE;
 LUNNISS, CHRISTOPHER JAMES;
 MITCHELL, CHARLOTTE JANE;
 PARR, NIGEL JAMES;
 RITCHIE, TIMOTHY JOHN;
 ROBINSON, JOHN EDWARD;
 SIMPSON, JULIET KAY;
 SMETHURST, CHRISTIAN ALAN PAUL y
 WASHIO, YOSHIAKI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 602 972 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

Derivados de indazol para su uso en el tratamiento de infección por virus de la gripe

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. Específicamente, la invención se refiere a compuestos que son inhibidores de la actividad o función de la isoforma delta de fosfoinosítido 3'OH cinasa (en lo sucesivo PI3K δ) para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

10 Las fosfoinosítido 3'OH cinasas (en lo sucesivo PI3K) son una familia de enzimas transductoras de señales que están implicadas en diversas funciones celulares, incluyendo el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular. Una gran variedad de retrovirus y virus basados en ADN activan la ruta de PI3K como forma de prevenir la muerte de la célula hospedadora durante la infección vírica y en última instancia aprovechar la maquinaria de síntesis de la célula hospedadora para su replicación (Virology 344(1) pág. 131-8 (2006) por Vogt y col.; y Nat. Rev. Microbiol. 6(4) pág. 265-75 (2008) por Buchkovich y col.). Por lo tanto, se ha postulado que los inhibidores de PI3K pueden tener un beneficio terapéutico potencial en el tratamiento de las infecciones víricas, tales como la infección por el virus de la gripe, además de en el tratamiento más establecido del cáncer y enfermedades inflamatorias.

15 La proteína NS1 de la gripe activa las PI3K de clase la uniéndose a su subunidad reguladora, p85beta, pero no a otras subunidades reguladoras de clase la, tales como p85alfa. La reciente estructura cristalina del complejo NS1-p85beta (Hale y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 107(5) pág.1954-1959 (2010)) sugiere también una interacción con la subunidad de cinasa de p110, proporcionando un mecanismo para la activación catalítica del dominio de cinasa. Esta observación proporciona una base racional para la especificidad de la isoforma no solo con la subunidad reguladora de p85, sino también potencialmente con la subunidad catalítica de p110. La función de PI3K durante la infección por el virus de la gripe también se ha investigado por, por ejemplo, Ehrhardt y col. (Cell. Microbiol. 8(8) pág. 1336-1348 (2006)), y se ha informado acerca del papel de la señalización de PI3K δ en la morbilidad y la patología pulmonar inducida por el virus de la gripe en el documento WO 2010/083163.

20 Los documentos WO 98/03487 y WO 2006/135383 desvelan derivados de indazol para tratar la infección por el virus de la gripe.

Sigue habiendo una necesidad de proporcionar compuestos que son inhibidores de la actividad o función de PI3K δ que puedan ser útiles en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Sumario de la invención

30 La invención se refiere a compuestos que son inhibidores de la actividad o función de PI3K δ para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) para el Ejemplo 10 (clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol).

35 La Figura 2 muestra un patrón XRPD para el polimorfo de la Forma (I) del Ejemplo 1 (H-[5-[4-(5-[[[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-sulfonamida).

40 La Figura 3 muestra un patrón XRPD para el polimorfo de la Forma (II) de H-[5-[4-(5-[[[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-sulfonamida.

La Figura 4 muestra un patrón XRPD para el polimorfo de la Forma (III) de H-[5-[4-(5-[[[(2H,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-sulfonamida.

45 La Figura 5 muestra un patrón XRPD para el polimorfo de la Forma (IV) de H-[5-[4-(5-[[[(2H,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-sulfonamida.

La Figura 6 muestra un patrón XRPD para un polimorfo de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

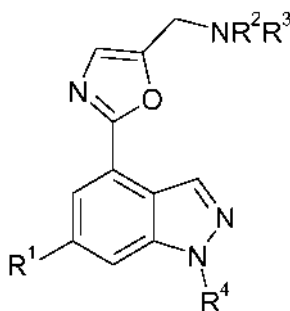
50 La Figura 7 muestra un patrón XRPD para un polimorfo de la sal tosilato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

La Figura 8 muestra un patrón XRPD para un polimorfo de la sal hemifumarato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metil-etil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

La Figura 9 muestra un patrón XRPD para un polimorfo de la sal hemisuccinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metil-etil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

5 Descripción detallada de la invención

En una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (VI)



(VI)

en la que

10 R^1 es un heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno y está opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , halo, -CN o -NHSO₂R⁵ o

piridinilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_{1-6} , -OR⁶, halo y -NHSO₂R⁷;

15 R^2 y R^3 , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 o 7 miembros, en el que el heterociclilo de 6 o 7 miembros contiene opcionalmente un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno adicional y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_{1-6} ;

R^4 es hidrógeno o metilo;

R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ; y

20 R^5 y R^7 son cada uno independientemente alquilo C_{1-6} o fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

25 En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R^1 es heteroarilo bicíclico de 9 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno, o piridinilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre -OR⁶ y -NHSO₂R⁷. En otra realización, R^1 es heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno, y está opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , halo, -CN o -NHSO₂R⁵. En otra realización, R^1 es heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno y está opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} o halo. En otra realización, R^1 es heteroarilo bicíclico de 9 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno. En otra realización, R^1 es indolilo, por ejemplo 1H-indol-4-ilo. En otra realización, R^1 es piridinilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_{1-6} , -OR⁶, halo y -NHSO₂R⁷. En otra realización, R^1 es piridinilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre -OR⁶ y -NHSO₂R⁷. En una realización más, R^1 es piridinilo sustituido con -OR⁶ y -NHSO₂R⁷.

40 En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R^2 y R^3 , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno adicional y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_{1-6} . En otra realización, R^2 y R^3 , junto con el átomo de nitrógeno al que están

unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno adicional y está sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₄, por ejemplo metilo. En otra realización, R² y R³, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de oxígeno y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₄, por ejemplo metilo. En otra realización, R² y R³, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de oxígeno y está sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆. En otra realización, R² y R³, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de nitrógeno adicional y está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄, por ejemplo isopropilo. En una realización más, R² y R³, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 miembros, en el que el heterociclilo de 6 miembros contiene un átomo de nitrógeno adicional y está sustituido con alquilo C₁₋₄, por ejemplo isopropilo.

En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R⁴ es hidrógeno.

En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R⁵ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo.

En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R⁶ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo.

En una realización, en los compuestos de fórmula (VI), R⁷ es alquilo C₁₋₆. En otra realización, R⁷ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo. En una realización más, R⁷ es fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, por ejemplo flúor.

Debe apreciarse que la presente invención cubre el uso de compuestos que tienen todas las combinaciones de los grupos de sustituyentes descritos anteriormente en el presente documento.

Los compuestos adecuados para su uso de acuerdo con la invención incluyen los compuestos de los Ejemplos preparativos 1 a 9 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización, el compuesto para su uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

N-[5-[4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida;

N-[5-[4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida;

N-[5-[4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida;

2,4-difluoro-*N*-[5-[4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida;

4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol;

6-(1H-indol-4-il)-4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;

6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol;

N-[5-[4-(5-((2R,6R)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;

6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(1-piperazinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto para su uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI) que es:

N-[5-[4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;

N-[5-[4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;

N-[5-[4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida;

2,4-difluoro-*N*-[5-[4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida;

4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil)metil)-1,3-oxazol-2-il)-6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol;

6-(1H-indol-4-il)-4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;

6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

N-[5-[4-(5-([2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-

sulfonamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

5 N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

10 (R)-mandelato de M-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

hemisuccinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

20 En otra realización, el compuesto para el uso de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (VI), que es:

6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

Términos y definiciones

25 **"Alquilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo saturado que tiene el número especificado de átomos miembros. Por ejemplo, alquilo C₁₋₆ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos miembros, por ejemplo de 1 a 4 átomos miembros. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define así en el presente documento. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramificaciones. Alquilo incluye metilo, etilo, propilo (n-propilo e isopropilo), butilo (n-butilo, isobutilo y t-butilo), pentilo (n-pentilo, isopentilo y neopentilo) y hexilo.

30 **"Cicloalquilo"** se refiere a un anillo hidrocarburo saturado que tiene el número especificado de átomos miembros. Los grupos cicloalquilo son sistemas de anillo monocíclicos. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₆ se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos miembros. En una realización, los grupos cicloalquilo tienen 3 o 4 átomos miembros. En una realización más, los grupos cicloalquilo tienen 5 o 6 átomos miembros. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define así en el presente documento. Se apreciará que el sustituyente puede estar en cualquier posición en el anillo, incluyendo el átomo de carbono que es el punto de unión al resto de la molécula. Cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

35 **"Enantioméricamente enriquecido"** se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es mayor de cero. Por ejemplo, enantioméricamente enriquecido se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es mayor del 50 % ee, mayor del 75 % ee y mayor del 90 % ee.

40 **"Exceso enantiomérico" o "ee"** es el exceso de un enantiómero sobre el otro, expresado en forma de un porcentaje. Como resultado, puesto que ambos enantiómeros están presentes en cantidades iguales en una mezcla racémica, el exceso enantiomérico es cero (0 % ee). Sin embargo, si un enantiómero se enriqueció de manera que constituye el 95 % del producto, entonces el exceso enantiomérico sería el 90 % ee (la cantidad del enantiómero enriquecido, 95 %, menos la cantidad del otro enantiómero, 5 %).

"Enantioméricamente puro" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es 99 % ee o superior.

45 **"Semivida"** (o "semividas") se refiere al tiempo requerido para que la mitad de una cantidad de una sustancia se convierta en otra especie químicamente distinta *in vitro* o *in vivo*.

"Halo" se refiere al radical de halógeno flúor, cloro, bromo o yodo. En una realización, el radical de halógeno radical es flúor, cloro o bromo.

"Heteroarilo", a menos que se indique otra cosa, se refiere a un grupo aromático que contiene de 1 a 3 heteroátomos, por ejemplo 1 o 2 heteroátomos, como átomos miembros en el anillo o anillos. Los grupos heteroarilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener heteroátomos diferentes. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos si se define así en el presente documento. Los grupos heteroarilo en el presente documento son sistemas de anillo monocíclicos o son sistemas de anillo bicíclicos condensados. Los anillos heteroarilo monocíclicos tienen 5 o 6 átomos miembros. Los anillos heteroarilo bicíclicos tienen 9 o 10 átomos miembros. El heteroarilo monocíclico incluye pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, furanilo, tienilo, furazanilo, triazolilo, tiadiazolilo, piridinilo, pirimidinilo, piridazinilo y pirazinilo. El heteroarilo bicíclico incluye indolilo, isoindolilo, indolizínilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indazolilo, purinilo, benzoimidazolilo, pirrolopiridinilo, pirazolopiridinilo, pirrolopirimidinilo, quinolilo, iso-quinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, benzopirranilo, benzoxazolilo, furopiridinilo y naftiridinilo.

"Heteroátomo" se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno.

"Heterociclilo", a menos que se indique otra cosa, se refiere a un anillo saturado o insaturado que contiene 1 o 2 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Sin embargo, los anillos heterociclilo no son aromáticos. En ciertas realizaciones, el heterociclilo está saturado. En otras realizaciones, el heterociclilo está insaturado pero no es aromático. Los grupos heterociclilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener heteroátomos diferentes. Los grupos heterociclilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define así en el presente documento. Los grupos heterociclilo en el presente documento son sistemas de anillo monocíclicos que tienen 5, 6 o 7 átomos miembros, sistemas de anillo bicíclicos que tienen 9 o 10 átomos miembros, sistemas de anillo puenteados que tienen 7 átomos miembros, o sistemas de anillo espiro bicíclicos que tienen 10 átomos miembros. El heterociclilo monocíclico incluye pirrolidinilo, pirazolidinilo, imidazolidinilo, isoxazolidinilo, oxazolidinilo, isotiazolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, hexahidro-1,4-oxazepinilo y tetrahidro-1,4-oxazepin-4(5H)-ilo. El heterociclilo bicíclico incluye octahidropirrollo[1,2-a]pirazinilo y octahidro-2H-1,4-benzoxazinilo. El heterociclilo puenteado incluye 7-azabicyclo[2,2,1]heptilo y 2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptilo. Los sistemas de anillo espiro bicíclicos incluyen 6-oxa-9-azaespiro[4,5]decilo.

"Virus de la gripe" se refiere a un miembro de la familia *Orthomyxoviridae* de virus de ARN e incluye cualquier cepa de virus de la gripe, por ejemplo gripe A o gripe B.

"Átomos miembros" se refiere al átomo o átomos que forman una cadena o anillo. Cuando está presente más de un átomo miembro en una cadena y dentro de un anillo, cada átomo miembro está enlazado covalentemente a un átomo miembro adyacente en la cadena o anillo. Los átomos que constituyen un grupo sustituyente en una cadena o anillo no son átomos miembros en la cadena o anillo.

"Opcionalmente sustituido" indica que un grupo, tal como un heteroarilo, puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento.

"Sustituido" en referencia a un grupo indica que un átomo de hidrógeno unido a un átomo miembro dentro de un grupo está reemplazado. Debe entenderse que el término "sustituido" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y del sustituyente y de que la sustitución dé como resultado un compuesto estable (es decir uno que no experimente espontáneamente transformación, tal como por reordenamiento, ciclación o eliminación). En ciertas realizaciones, un solo átomo puede estar sustituido con más de un sustituyente siempre y cuando tal sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo. En el presente documento se definen sustituyentes adecuados para cada grupo sustituido u opcionalmente sustituido.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, sales, materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del alcance de un juicio médico razonable, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, coherente con una relación beneficio/riesgo razonable.

Como se usan en el presente documento, los símbolos y convenciones usados en estos procedimientos, esquemas y ejemplos son coherentes con aquellos usados en la literatura científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society* o el *Journal of Biological Chemistry*. Generalmente, se usan abreviaturas convencionales de una sola letra o de tres letras para designar restos de aminoácidos, que se asume que están en la configuración L a menos que se indique otra cosa. A menos que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, pueden usarse las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva:

Ac	Acuoso
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	Dimetilformamida
DMPU	1,3-Dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2-(1H)-pirimidinona

DMSO	Dimetilsulfóxido
Et	Etilo
EtOAc	Acetato de etilo
g	Gramos
h	hora(s)
HATU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N',N'-tetrametiluronio
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
IPA	Isopropanol
CLEM	Cromatografía líquida espectroscopía de masas
L	Litro
M	Molar
MDAP	HPLC preparativa automatizada dirigida a masas
Me	Metilo
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
Min	Minutos
ml	Mililitros
mmol	Milimoles
Pf	Punto de fusión
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II)
Pd(dppf)Cl ₂ -CH ₂ Cl ₂	Aducto de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaladio (II) diclorometano
Pd(PPh ₃) ₄	Tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0)
Tr	Tiempo de retención
TA	Temperatura ambiente
s	Segundos
SCX	Intercambio catiónico fuerte
Catalizador Solvias	cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (1:1)
SPE	Extracción en fase sólida
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
UPLC	Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento
UV	Ultravioleta

Todas las referencias a salmuera son a una solución acuosa saturada de NaCl.

5 Includidos dentro del alcance de los compuestos para su uso de acuerdo con la invención están todos los solvatos (incluyendo hidratos), complejos, polimorfos, derivados radiomarcados, estereoisómeros e isómeros ópticos de los compuestos de fórmula (VI) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En el estado sólido, los compuestos pueden existir en forma cristalina o no cristalina, o como una mezcla de las mismas. Para compuestos que están en forma cristalina, el técnico experto apreciará que pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables en los que las moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden implicar disolventes no acuosos, tales como etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina y EtOAc, o pueden implicar agua como disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en los que el disolvente es agua que se incorpora en la red cristalina se denominan típicamente "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención incluyen todos estos solvatos.

15 El técnico experto apreciará adicionalmente que determinados compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso de acuerdo con la invención que existen en forma cristalina, incluyendo los diversos solvatos de los mismos, pueden mostrar polimorfismo (es decir la capacidad de aparecer en estructuras cristalinas diferentes). Estas diferentes formas cristalinas se conocen típicamente como "polimorfos". Los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso de acuerdo con la invención incluyen todos estos
20 polimorfos. Los polimorfos tienen la misma composición química pero se diferencian en el empaquetamiento, disposición geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Los polimorfos, por tanto, pueden tener propiedades físicas diferentes, tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución. Los polimorfos muestran típicamente diferentes puntos de fusión, espectros de IR y patrones de difracción de polvo de rayos X, que pueden usarse para su identificación. El técnico experto apreciará que pueden producirse
25 diferentes polimorfos, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones de reacción o reactivos, usado en la fabricación del compuesto. Por ejemplo, cambios en temperatura, presión o disolvente pueden dar como resultado polimorfos. Además, un polimorfo puede convertirse espontáneamente en otro polimorfo en determinadas condiciones.

En un aspecto, la presente invención proporciona 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

5 En una realización, la presente invención proporciona un polimorfo de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado en que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 9,0, aproximadamente 9,6, aproximadamente 10,4 y/o aproximadamente 12,5 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

10 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 6 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

15 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 6 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la presente invención proporciona tosilato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

20 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de la sal tosilato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 6,3, aproximadamente 9,3, aproximadamente 11,3 y/o aproximadamente 12,7 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

25 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de la sal tosilato de 6-(1 H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 7 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

30 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de la sal tosilato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 7 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la presente invención proporciona hemi fumarato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

35 En otra realización, la presente invención proporciona un polimorfo de la sal hemi fumarato de 6-(1 H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 6,9, aproximadamente 13,8 y/o aproximadamente 14,4 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

40 En otra realización, la invención proporciona un polimorfo de la sal hemi fumarato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 8 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

45 En otra realización, la invención proporciona un polimorfo de la sal hemi fumarato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 8 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la presente invención proporciona hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

50 En otra realización, la invención proporciona un polimorfo de la sal hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 7,2, aproximadamente 13,2 y/o aproximadamente 14,0 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la invención proporciona un polimorfo de la sal hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de

XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 9 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

5 En otra realización, la invención proporciona un polimorfo de la sal hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 9 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la presente invención proporciona clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

10 En otra realización, la presente invención proporciona clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol cristalino caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD (difracción de polvo de rayos X) que tiene picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 5,2, aproximadamente 10,3 y/o aproximadamente 12,8 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

15 En otra realización, la presente invención proporciona clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol cristalino caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 1 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

20 En una realización más, la presente invención proporciona clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol cristalino caracterizado por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 1 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En una realización, la presente invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida en forma cristalina para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

30 En otra realización, la presente invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma I) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD (difracción de polvo de rayos X) que tienen picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 4,5, aproximadamente 11,7 y/o aproximadamente 12,9 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

35 En otra realización, la presente invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma I) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 2 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

40 En otra realización, la presente invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma I) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 2 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

45 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma II) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 4,6, aproximadamente 9,2, aproximadamente 11,4 y/o aproximadamente 12,7 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

50 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma II) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 3 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma II) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 3 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

- 5 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma III) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 6,7, aproximadamente 8,2, aproximadamente 9,7 y/o aproximadamente 12,6 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.
- 10 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma III) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 4 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.
- 15 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma IV) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos ($^{\circ}2\theta$) a aproximadamente 5,8, y/o aproximadamente 11,6 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.
- 20 En otra realización, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma IV) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD que comprende picos sustancialmente como se exponen en la Tabla 5 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.
- 25 En una realización más, la invención proporciona *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida cristalina (Forma IV) caracterizada por que proporciona un patrón de XRPD sustancialmente de acuerdo con la Figura 5 para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.
- Cuando se indica en el presente documento que existe un pico en un patrón de XRPD en un valor dado, esto típicamente significa que el pico está dentro de $\pm 0,2$ del valor citado, por ejemplo dentro de $\pm 0,1$ del valor citado.
- 30 La invención abarca el uso de polimorfos y sales y polimorfos de las mismas aislados en forma pura o cuando se mezclan con otros materiales, por ejemplo otros polimorfos, o sales o solvatos (inclusive sus polimorfos), o cualquier otro material.
- Por lo tanto, en un aspecto se proporciona un polimorfo o sal o un polimorfo de la misma en forma aislada o pura. Forma "aislada" o "pura" se refiere a una muestra en la que el polimorfo o sal o un polimorfo de la misma está presente en una cantidad de $>75\%$, particularmente $>90\%$, más particularmente $>95\%$ e incluso más particularmente $>99\%$ relativa a los otros materiales que pueden estar presentes en la muestra.
- 35 Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención también incluyen compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los compuestos de fórmula (VI) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pero en los que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra más comúnmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y flúor, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{14}C y ^{18}F .
- 40 Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención pueden contener uno o más centros asimétricos (también denominados un centro quiral) y pueden, por lo tanto, existir en forma de enantiómeros individuales, diastereómeros u otras formas estereoisoméricas o como mezclas de las mismas. También pueden estar presentes centros quirales, tales como átomos de carbono quirales, en un sustituyente, tal como un grupo alquilo. Donde no se especifica la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula (VI), o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, la estructura pretende incluir cualquier estereoisómero y todas las mezclas de los mismos. Por lo tanto, los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI) que contienen uno o más centros quirales pueden usarse como mezclas racémicas, mezclas enantioméricamente enriquecidas o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros.
- 45 Los estereoisómeros individuales de un compuesto de acuerdo con la fórmula (VI) que contiene uno o más centros asimétricos pueden resolverse por métodos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, tal resolución puede realizarse (1) mediante formación de sales diastereoméricas, complejos o sus derivados; (2) mediante reacción selectiva con un reactivo específico de estereoisómero, por ejemplo mediante oxidación enzimática o reducción; o (3) mediante cromatografía líquida o de gas-líquido en un entorno quiral, por ejemplo, en un soporte quiral tal como sílice con un ligando quiral de enlace o en presencia de un disolvente quiral. El técnico experto apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química por uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, se requiere una etapa adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, pueden sintetizarse
- 50
- 55

estereoisómeros específicos por síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o disolventes, o convirtiendo un enantiómero en el otro, mediante transformación asimétrica.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI) también pueden contener centros de geometría asimétrica. Cuando no se especifica la estereoquímica de un centro de asimetría geométrica presente en la fórmula (VI), o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, la estructura pretende incluir el isómero geométrico trans, el isómero geométrico cis y todas las mezclas de los mismos. De forma análoga, todas las formas tautoméricas también están incluidas en la fórmula (VI) tanto si tales tautómeros existen en equilibrio o predominantemente en una forma.

Debe apreciarse que las referencias en el presente documento a compuestos de fórmula (VI) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos cubren los compuestos de fórmula (VI) en forma de ácidos libres o bases libres, o en forma de sales farmacéuticamente aceptables de las mismas. Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere al uso de compuestos de fórmula (VI) en forma del ácido libre o base libre. En una realización más, la invención se refiere al uso de compuestos de fórmula (VI) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El técnico experto apreciará que pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI). De hecho, en ciertas realizaciones de la invención, pueden preferirse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI) sobre la base libre o ácido libre respectivo, porque tales sales pueden impartir una mayor estabilidad o solubilidad a la molécula facilitando así la formulación en una forma de dosificación.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto objeto y muestran mínimos efectos toxicológicos indeseados. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del compuesto, o por separado haciendo reaccionar el compuesto purificado en forma de su ácido libre o base libre, o una sal no farmacéuticamente aceptable, con una base o ácido adecuado, respectivamente.

Pueden usarse sales y solvatos que tienen contraiones no farmacéuticamente aceptables o disolventes asociados como intermedios en la preparación de compuestos de fórmula (VI) y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En ciertas realizaciones, los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI) pueden contener un grupo funcional ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de tales grupos funcionales ácidos. Las sales representativas incluyen sales metálicas farmacéuticamente aceptables, tales como sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, aluminio y cinc; carbonatos y bicarbonatos de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, tal como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, aluminio y cinc; aminas orgánicas primarias, secundarias y terciarias farmacéuticamente aceptables, incluyendo aminas alifáticas, aminas aromáticas, diaminas alifáticas e hidroxilalquilaminas, tales como metilamina, etilamina, 2-hidroxietilamina, dietilamina, TEA, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina y ciclohexilamina.

En ciertas realizaciones, los compuestos de acuerdo con la fórmula (VI) pueden contener un grupo funcional básico y por tanto son capaces de formas sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables por tratamiento con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables representativas incluyen clorhidrato, bromhidrato, nitrato, metilnitrato, sulfato, bisulfato, sulfamato, fosfato, acetato, hidroxiacetato, fenilacetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, maleato, hidroximaleato, acrilato, fumarato, malato, tartrato, citrato, salicilato, p-aminosalicilato, glicolato, lactato, heptanoato, ftalato, oxalato, succinato, benzoato, o-acetoxibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, naftoato, hidroxinaftoato, mandelato, tanato, formiato, estearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutamato, estolato, metanosulfonato (mesilato), etanosulfonato (esilato), 2-hidroxietanosulfonato, bencenosulfonato (besilato), p-aminobencenosulfonato, p-toluenosulfonato (tosilato), naftaleno-2-sulfonato y naftalenodisulfonato. En una realización, la sal de adición farmacéuticamente aceptable es un clorhidrato. En una realización más, la sal de adición farmacéuticamente aceptable es un mandelato, tal como el (R)-mandelato.

En un aspecto, la invención proporciona una sal de *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida seleccionada entre sodio, tosilato, maleato, hemi pamoato, hemi naftalenodisulfonato, mesitlenosulfonato, hemi bifenildisulfonato, 2-naftalenosulfonato (napsilato), hemi cinamato, hemi sebacato, hemi piromelitato y hemi bencenodiacrilato para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En una realización, la invención proporciona una sal de *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida seleccionada entre sodio, tosilato, maleato, hemi pamoato y hemi naftalenodisulfonato para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En una realización, la sal de sodio es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida e hidróxido sódico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. En otra realización, la sal tosilato es la sal mono tosilato formada entre *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridi-

nil]metanosulfonamida y ácido p-toluenosulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. En otra realización, la sal maleato es la sal mono maleato formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido maleico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. En otra realización, la sal hemipamoato es la sal formada entre *M*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido pamoico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En otra realización, la sal hemi naftalenodisulfonato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido naftalenodisulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En otra realización, la sal mesitilensulfonato es la sal mono mesitilensulfonato formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y dihidrato del ácido mesitilensulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. En otra realización, la sal hemi bifenildisulfonato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido bifenildisulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En otra realización, la sal 2-naftalenosulfonato (napsilato) es la sal mono 2-naftalenosulfonato (napsilato) formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido 2-naftalenosulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. En otra realización, la sal hemi cinamato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido transcinámico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En otra realización, la sal hemi sebacato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido sebácico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En otra realización, la sal hemi piromelitato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido piromelítico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. En una realización adicional, la sal hemi bencenodiacrilato es la sal formada entre *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida y ácido 1,4-bencenodiacrílico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una sal de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol seleccionada entre tosilato, hemi fumarato y hemi succinato para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En una realización, la invención proporciona una sal de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol seleccionada entre hemi fumarato y hemi succinato para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En otra realización, la invención proporciona la sal hemi fumarato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

En una realización más, la invención proporciona la sal hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

La sal tosilato es la sal mono tosilato formada entre 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y ácido p-toluenosulfónico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 1:1. La sal hemi fumarato es la sal formada entre 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y ácido fumárico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1. La sal hemi succinato es la sal formada entre 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y ácido succínico en una proporción estequiométrica de aproximadamente 2:1.

Preparación de Compuestos

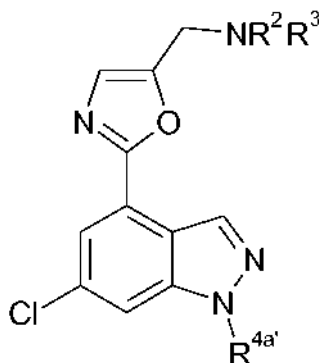
Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención pueden prepararse por una diversidad de métodos, incluyendo química convencional. Cualquier variable definida previamente continuará teniendo el significado definido previamente a menos que se indique otra cosa. A continuación se exponen procedimientos sintéticos generales ilustrativos y después se preparan compuestos específicos para su uso de acuerdo con la invención en la sección de Ejemplos.

Los compuestos de fórmula (VI)

Los compuestos de fórmula (VI) pueden prepararse como se describe en el documento WO 2010/125082.

Procedimiento 1A

Los compuestos de fórmula (VI), en la que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se han definido para compuestos de fórmula (VI), o sales de los mismos, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXV)



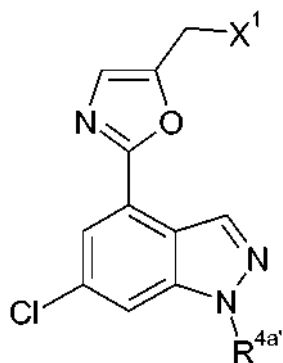
(XXXV)

- 5 en la que R^2 y R^3 son como se han definido para compuestos de fórmula (VI) y $R^{4a'}$ es metilo o un grupo protector adecuado, tal como bencenosulfonilo, por tratamiento con un ácido borónico o éster boronato adecuado, tal como 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (disponible en el mercado), en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano, en un disolvente adecuado, tal como una mezcla de 1,4-dioxano y agua en una proporción adecuada, por ejemplo aproximadamente 4:1, en presencia de una base adecuada, tal como bicarbonato sódico, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo aproximadamente 120 °C.

- 15 El grupo R^1 introducido mediante el ácido borónico o éster boronato puede protegerse mediante un grupo protector adecuado, tal como un grupo *tert*-butildimetilsililo y puede requerirse una etapa de desprotección adicional, por ejemplo tratamiento con un fluoruro adecuado, tal como fluoruro de tetra-*n*-butilamonio, en un disolvente adecuado, tal como tetrahidrofurano, y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

- 20 Si es necesario, para compuestos de fórmula (XXXV) en la que $R^{4a'}$ es un grupo protector adecuado, el grupo protector tal como bencenosulfonilo puede retirarse posteriormente por tratamiento con una base inorgánica acuosa adecuada, tal como hidróxido sódico acuoso, en un disolvente adecuado, tal como isopropanol, y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

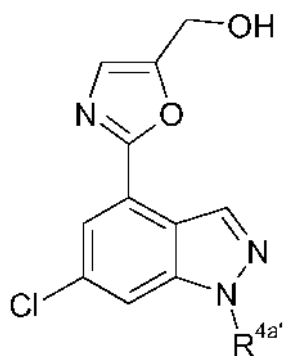
Los compuestos de fórmula (XXXV), en la que R^2 y R^3 son como se han definido para compuestos de fórmula (VI) y $R^{4a'}$ es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXVI)



(XXXVI)

- 25 en la que $R^{4a'}$ es como se ha definido anteriormente y X^1 es un grupo saliente adecuado, tal como Br, por tratamiento con una amina de fórmula HNR^2R^3 , en la que R^2 y R^3 son como se han definido para compuestos de fórmula (VI), en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

Los compuestos de fórmula (XXXVI), en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente y X^1 es Br, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXVII)

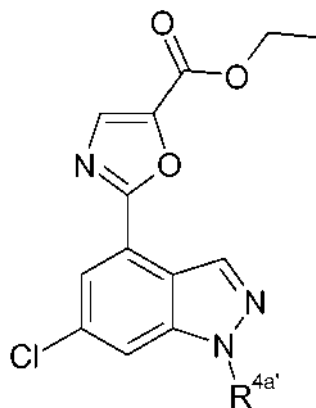


(XXXVII)

5 en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente de bromación adecuado, tal como tetrabromuro de carbono y una fosfina adecuada, tal como trifetilfosfina, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 50 °C, por ejemplo de aproximadamente 0 °C, calentando a aproximadamente 20 °C después de la adición.

10 O, como alternativa, pueden prepararse compuestos de fórmula (XXXVI), en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente y X^1 es Br, a partir de compuestos de fórmula (XXXVII) en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente de bromación adecuado, tal como dibromuro de trifetilfosfina, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 50 °C, por ejemplo de aproximadamente 0 °C.

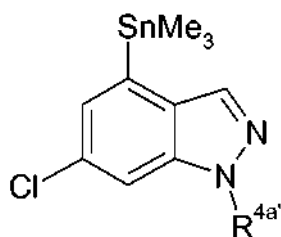
Los compuestos de fórmula (XXXVII), en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXVIII)



(XXXVIII)

15 en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente reductor adecuado, tal como hidruro de diisobutilaluminio, en un disolvente adecuado, tal como tetrahidrofurano, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente -50 °C a aproximadamente 0 °C, por ejemplo de aproximadamente 0 °C.

20 Los compuestos de fórmula (XXXVIII), en la que R^{4a} es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXIX)

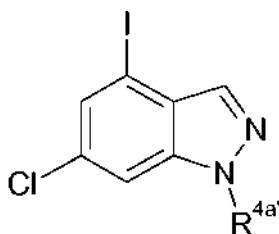


(XXXIX)

5 en la que R^{4a'} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un haluro adecuado, tal como 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (disponible en el mercado), en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), en un disolvente adecuado, tal como una *N,N*-dimetilformamida, en presencia de un yoduro adecuado, tal como yoduro sódico, y en irradiación de microondas a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo aproximadamente 100 °C.

10 O, como alternativa, pueden prepararse compuestos de fórmula (XXXVIII), en la que R^{4a'} es como se ha definido anteriormente, a partir de compuestos de fórmula (XXXX) como se define más adelante, por tratamiento con un estanano adecuado, tal como hexametildiestaño, en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) y una base adecuada, tal como trietilamina, en un disolvente adecuado, tal como tolueno, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 200 °C, por ejemplo aproximadamente 120 °C, seguido de tratamiento con un haluro adecuado, tal como 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de metilo (disponible en el mercado), en presencia de un yoduro adecuado, tal como yoduro de cobre (I), y un catalizador de paladio adecuado, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), en un disolvente adecuado, tal como 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinona, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo aproximadamente 85 °C.

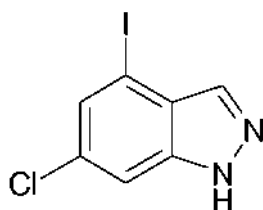
Los compuestos de fórmula (XXXIX), en la que R^{4a'} es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXX)



(XXXX)

20 en la que R^{4a'} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un estanano adecuado, tal como hexametildiestaño, en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), en un disolvente adecuado, tal como xileno, en presencia de una base adecuada, tal como trietilamina, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 200 °C, por ejemplo aproximadamente 150 °C.

Los compuestos de fórmula (XXXX), en la que R^{4a'} es metilo, pueden prepararse a partir de compuestos, tales como el compuesto de fórmula (XXXXI)



(XXXXI)

por metilación usando una base adecuada, tal como hidruro sódico, en un disolvente adecuado, tal como tetrahidrofurano y a una temperatura adecuada, tal como aproximadamente 0 °C, seguido de la adición de un agente de alquilación, tal como yodometano y agitando a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

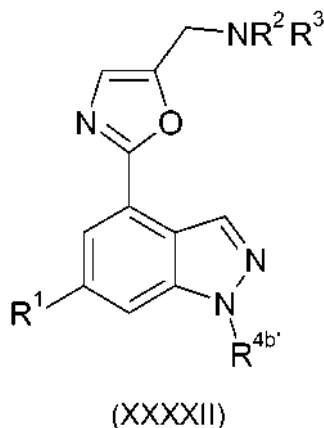
5 El compuesto de fórmula (XXXXI) está disponible en el mercado.

Los compuestos de fórmula (XXXX), en la que R^{4a} es un grupo protector adecuado, tal como bencenosulfonilo, pueden prepararse a partir del compuesto con la fórmula (XXXXI) como se ha definido anteriormente, por tratamiento con una base adecuada, tal como hidruro sódico en un disolvente adecuado, tal como *N,N*-dimetilformamida, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 20 °C, por ejemplo aproximadamente 0 °C, seguido de tratamiento con un agente de sulfonilación adecuado, tal como cloruro de bencenosulfonilo, a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 50 °C, por ejemplo aproximadamente 0 °C calentando a aproximadamente 20 °C después de la adición.

O, como alternativa, pueden prepararse compuestos de fórmula (XXXX), en la que R^{4a} es un grupo protector adecuado, tal como bencenosulfonilo, a partir del compuesto con la fórmula (XXXXI) como se ha definido anteriormente, por tratamiento con una base adecuada, tal como hidróxido sódico y un catalizador de transferencia de fases adecuado, tal como bisulfato de tetra-*n*-butilamonio, en un disolvente adecuado, tal como tetrahidrofurano y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 20 °C, por ejemplo aproximadamente 20 °C, seguido de tratamiento con un agente de sulfonilación adecuado, tal como cloruro de bencenosulfonilo, a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 50 °C, por ejemplo aproximadamente 25 °C.

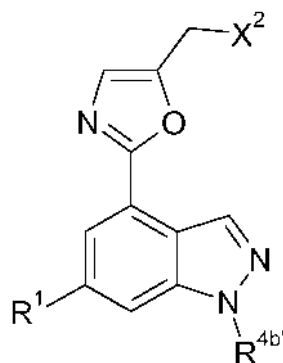
Procedimiento 2A

Los compuestos de fórmula (VI), en la que R¹, R² y R³ son como se han definido para compuestos de fórmula (VI) y R⁴ es hidrógeno, o sales de los mismos, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXXII)



25 en la que R¹, R² y R³ son como se han definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b} es un grupo protector adecuado, tal como bencenosulfonilo, por tratamiento con una base inorgánica acuosa adecuada, tal como hidróxido sódico acuoso, en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

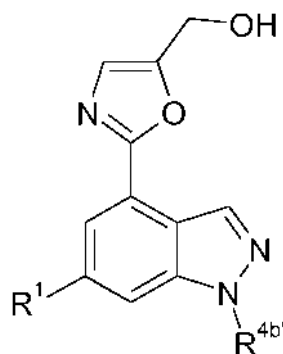
30 Los compuestos de fórmula (XXXXII), en la que R¹, R² y R³ son como se han definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b} son como se han definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXXIII)



(XXXIII)

5 en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI), R^{4b1} es como se ha definido anteriormente y X^2 es un grupo saliente adecuado, tal como Br, por tratamiento con una amina de fórmula HNR^2R^3 , en la que R^2 y R^3 son como se han definido para compuestos de fórmula (VI), en un disolvente adecuado, tal como diclorometano y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

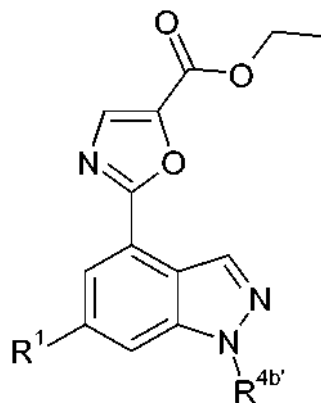
Los compuestos de fórmula (XXXIII), en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI), R^{4b1} es como se ha definido anteriormente y X^2 es Br, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXIV)



(XXXIV)

10 en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b1} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente de bromación adecuado, tal como tetrabromuro de carbono y una fosfina adecuada, tal como trifenilfosfina, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 50 °C, por ejemplo aproximadamente 0 °C calentando a temperatura ambiente después de la adición.

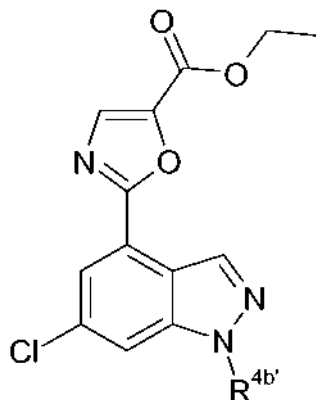
15 Los compuestos de fórmula (XXXIV), en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b1} es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXV)



(XXXV)

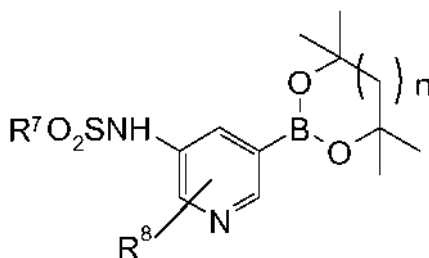
en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente reductor adecuado, tal como hidruro de diisobutilaluminio, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$, por ejemplo aproximadamente $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

- 5 Los compuestos de fórmula (XXXV), en la que R^1 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y R^{4b} es como se ha definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXVI)



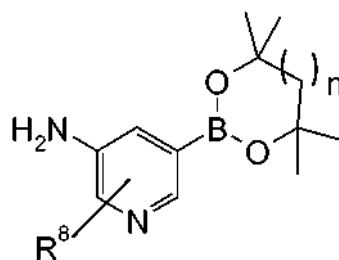
(XXXVI)

- 10 en la que R^{4b} es como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un ácido borónico o éster boronato adecuado tal como ácido {1-[(1,1-dimetil-etil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}borónico (disponible en el mercado), en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano, en un disolvente adecuado, tal como una mezcla de 1,4-dioxano y agua en una proporción adecuada, por ejemplo aproximadamente 10:1, en presencia de una base adecuada, tal como fosfato potásico tribásico, y a una temperatura adecuada, tal como aproximadamente $80\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $150\text{ }^\circ\text{C}$, por ejemplo aproximadamente $100\text{ }^\circ\text{C}$. Como alternativa, este procedimiento puede realizarse en irradiación de microondas, y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente $80\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $150\text{ }^\circ\text{C}$, por ejemplo aproximadamente $120\text{ }^\circ\text{C}$.
- 15



(XXXVII)

- 20 Pueden prepararse ésteres de boronato de fórmula (XXXVII), en la que R^7 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI), R^8 es alquilo C_{1-6} , $-OR^6$ o halo, en el que R^6 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y $n = 0$ o 1 , a partir de compuestos de fórmula (XXXVIII)

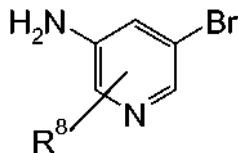


(XXXVIII)

en la que R^8 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y $n = 0$ o 1 , por tratamiento con un cloruro de sulfonilo adecuado de fórmula R^7SO_2Cl en la que R^7 es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI), tal como

cloruro de metanosulfonilo, en un disolvente adecuado, tal como piridina y a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.

Los compuestos de fórmula (XXXXVIII), en la que R⁸ es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI) y n = 0 o 1, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (XXXXIX)



(XXXXIX)

5

en la que R⁸ es como se ha definido para compuestos de fórmula (VI), para los que una amplia gama de análogos está disponible en el mercado, por tratamiento con un borolano adecuado, tal como 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolano, en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, en presencia de una base adecuada, tal como acetato potásico, en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano y a una temperatura adecuada, tal como de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 120 °C, por ejemplo aproximadamente 80 °C.

10

Uso

Los usos de la invención comprenden administrar una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (VI) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un paciente que lo necesite. Las realizaciones individuales de la invención incluyen el uso de una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (VI) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe en un paciente que lo necesite.

15

Tal como se usa en el presente documento, "tratar o prevenir" en referencia a un trastorno significa: (1) mejorar o prevenir la enfermedad o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (2) interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a o es responsable del trastorno o (b) una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con el trastorno, o (4) frenar la progresión del trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno.

20

El experto en la materia apreciará que "prevención" no es un término absoluto. En medicina, se entiende que la "prevención" se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de un trastorno o manifestación biológica del mismo, o para retrasar la aparición de dicho trastorno o manifestación biológica del mismo.

25

En una realización, los usos de la invención se refieren al tratamiento de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, los usos de la invención se refieren a la prevención de la infección por el virus de la gripe.

30

Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad segura y eficaz" en referencia a un compuesto de fórmula (VI) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o de otro agente farmacéuticamente activo significa una cantidad del compuesto suficiente para tratar la afección del paciente, pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (con una relación beneficio/riesgo razonable) dentro del ámbito del buen criterio médico. Una cantidad segura y eficaz de un compuesto variará dependiendo del compuesto particular elegido (por ejemplo, teniendo en consideración la potencia, eficacia, y semivida del compuesto); la vía de administración elegida; el trastorno que se va a tratar; la gravedad del trastorno que se va a tratar; la edad, tamaño, peso, y estado físico del paciente que se vaya a tratar; el historial médico del paciente que se va a tratar; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares, pero no obstante puede determinarse de manera rutinaria por el experto en la materia.

35

Tal como se usa en el presente documento, un "paciente" se refiere a un ser humano (incluyendo adultos y niños) u otro animal. En una realización, "paciente" se refiere a un ser humano.

40

Los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo pueden administrarse mediante cualquier ruta de administración adecuada, incluyendo tanto administración sistémica como administración tópica. La administración sistémica incluye administración oral, administración parenteral, administración transdérmica y administración rectal. La administración parenteral se refiere a rutas de administración distintas a la enteral o transdérmica, y es típicamente mediante inyección o infusión. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular, y subcutánea. La administración tópica incluye aplicación sobre la piel así como administración intraocular, ótica, intravaginal, inhalada e intranasal. La inhalación se refiere a la administración a los pulmones del paciente ya sea inhalada por la boca o a través de las fosas nasales. En una realización, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden administrarse por vía oral. En otra realización, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden

50

administrarse por inhalación. En una realización adicional, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden administrarse por vía intranasal.

Los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden administrarse una vez o de acuerdo con una pauta de dosificación en la que se administran una serie de dosis a distintos intervalos de tiempo durante un periodo de tiempo dado. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una, dos, tres, o cuatro veces al día. En una realización, se administra una dosis una vez al día. En una realización adicional, se administra una dosis dos veces al día. Las dosis pueden administrarse hasta que se logra el efecto terapéutico deseado o de manera indefinida para mantener el efecto terapéutico deseado. Las pautas de dosificación adecuadas para un compuesto de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo dependen de las propiedades farmacocinéticas de ese compuesto, tales como absorción, distribución, y semivida, que pueden determinarse por el experto en la materia. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de la administración de dichos regímenes, para un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dependen del trastorno que se esté tratando, de la gravedad del trastorno que se va a tratar, de la edad y estado físico del paciente que se va a tratar, del historial médico del paciente que se va a tratar, de la naturaleza de la terapia concurrente, del efecto terapéutico deseado, y factores similares dentro del conocimiento y experiencia del experto en la materia. Dichos expertos en la materia entenderán que los regímenes de dosificación adecuados pueden necesitar ajustes dada la respuesta individual del paciente al régimen de dosificación o a lo largo del tiempo a medida que cambian las necesidades del paciente.

Las dosificaciones diarias variarán dependiendo de la ruta de administración particular elegida. Las dosificaciones diarias típicas para administración oral se encuentran en el intervalo de 0,001 mg a 50 mg por kg de peso corporal total, por ejemplo, de 1 mg a 10 mg por kg de peso corporal total. Por ejemplo, las dosificaciones diarias para administración oral pueden ser de 0,5 mg a 2 g por paciente, tal como de 10 mg a 1 g por paciente.

Además, los compuestos de fórmula (VI) pueden administrarse como profármacos. Tal como se usa en el presente documento, un "profármaco" de un compuesto de fórmula (VI) es un derivado funcional del compuesto que, tras su administración a un paciente, acaba liberando finalmente el compuesto de fórmula (VI) *in vivo*. La administración de un compuesto de fórmula (VI) en forma de profármaco puede permitir al experto en la materia hacer uno o más de los siguientes: (a) modificar la aparición de la actividad del compuesto *in vivo*; (b) modificar la duración de la acción del compuesto *in vivo*; (c) modificar el transporte o distribución del compuesto *in vivo*; (d) modificar la solubilidad del compuesto *in vivo*; y (e) superar un efecto secundario u otra dificultad encontrada con el compuesto. Los derivados funcionales típicos usados para preparar profármacos incluyen modificaciones del compuesto que son químicamente o enzimáticamente escindibles *in vivo*. Dichas modificaciones, que incluyen la preparación de fosfatos, amidas, ésteres, tioésteres, carbonatos, y carbamatos, se conocen bien por los expertos en la materia.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En una realización, la invención proporciona N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona (R)-mandelato de N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En una realización adicional, la invención proporciona clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En una realización, la invención proporciona el uso de N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona el uso de (R)-mandelato de N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona el uso de N -[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfon

amida en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona el uso de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En otra realización, la invención proporciona el uso de hemisuccinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe. En una realización adicional, la invención proporciona el uso de clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Composiciones

Los compuestos de fórmula (VI) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos normalmente, pero no necesariamente, se formularán en composiciones farmacéuticas antes de su administración a un paciente.

Por consiguiente, en un aspecto, la divulgación se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende *N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende *N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende (R)-mandelato de *N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende hemisuccinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden de 0,05 a 1000 mg de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y de 0,1 a 2 g de uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende *N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende (R)-mandelato de *N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida.

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende N-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida.

- 5 En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 En una realización, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende hemisuccinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe que comprende clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol.

- 15 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la divulgación pueden prepararse y envasarse en forma a granel, en la que puede extraerse una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y después administrarse al paciente, tal como con polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la divulgación pueden prepararse y envasarse en forma de dosis unitaria en la que cada unidad físicamente discreta contiene un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se preparan en forma de dosis unitaria, las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la divulgación pueden contener típicamente, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, o de 1 mg a 700 mg, o de 5 mg a 100 mg de un compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 25 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la divulgación contienen típicamente un compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 30 Tal como se usa en el presente documento, un "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable implicado en dar forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente tiene que ser compatible con los demás ingredientes de la composición farmacéutica cuando están mezclados de tal forma que se evitan las interacciones que podrían reducir sustancialmente la eficacia del compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo cuando se administra a un paciente e interacciones que podrán dar como resultado composiciones farmacéuticas que no son farmacéuticamente aceptables. Además, cada excipiente tiene que ser, por supuesto, farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, de una pureza lo suficientemente alta.

- 35 El compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables se formularán típicamente en una forma de dosificación adaptada para la administración al paciente a través de la ruta de administración deseada. Por ejemplo, las formas de dosificación incluyen aquellas adaptadas para (1) administración oral, tales como comprimidos, cápsulas, comprimidos en forma de cápsula, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, bolsitas, y obleas; (2) administración parenteral, tales como soluciones, suspensiones, y polvos estériles para reconstitución; (3) administración transdérmica, tales como parches transdérmicos; (4) administración rectal, tal como supositorios; (5) inhalación, tales como aerosoles, soluciones, y polvos secos; y (6) administración tópica, tales como cremas, pomadas, lociones, soluciones, pastas, pulverizadores, espumas, y geles.

- 45 los excipientes farmacéuticamente aceptables variarán dependiendo de la forma de dosificación particular elegida. Además, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados pueden seleccionarse para una función particular que puedan cumplir en la composición. Por ejemplo, pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación uniformes. Pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación estables. Pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar portar o trasladar el compuesto o compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos una vez se administran al paciente desde un órgano, o parte del organismo, a otro órgano, o parte del organismo. Pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para potenciar el cumplimiento por parte del paciente.

- 55 Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, emolientes, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes suspensores, emulsionantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes colorantes, agentes antiaglomerantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes aumentadores de la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos, y agentes tamponadores. El experto en la materia apreciará que determinados excipientes farmacéuticamente

aceptables pueden cumplir más de una función y pueden cumplir funciones alternativas, dependiendo de cuánta cantidad de excipiente esté presente en la formulación y qué otros excipientes estén presentes en la formulación.

El experto en la materia posee el conocimiento y la habilidad de la técnica para permitirle seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables en cantidades adecuadas para su uso de acuerdo con la divulgación. Además, hay una serie de recursos disponibles para el experto en la materia que describen excipientes farmacéuticamente aceptables y que pueden ser útiles para seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), y The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

- 5 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la divulgación se preparan usando técnicas y procedimientos conocidos para los expertos en la materia. Algunos de los procedimientos empleados de manera común en la técnica se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede prepararse mediante, por ejemplo, mezcla a temperatura ambiente y presión atmosférica.

- 15 En una realización, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se formularán para administración oral. En otra realización, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se formularán para administración inhalada. En una realización adicional, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se formularán para administración intranasal.

- 20 En un aspecto, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación es una forma de dosificación oral sólida, tal como un comprimido o cápsula que comprende una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un diluyente o carga. Los diluyentes y cargas adecuados incluyen lactosa, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata, y almidón pregelatinizado), celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina), sulfato de calcio, y fosfato de calcio dibásico. La forma de dosificación oral sólida puede comprender además un aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata, y almidón pregelatinizado), gelatina, goma arábiga, alginato sódico, ácido algínico, tragacanto, goma guar, povidona y celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina). La forma de dosificación oral sólida puede comprender además un disgregante. Los disgregantes adecuados incluyen crospovidona, glicolato sódico de almidón, croscarmelosa, ácido algínico, y carboximetil celulosa de sodio. La forma de dosificación oral sólida puede comprender además un lubricante. Los lubricantes adecuados incluyen ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato cálcico, y talco.

En los casos en donde sea adecuado, las formulaciones de dosificación unitaria para administración oral pueden microencapsularse. La composición también puede prepararse para prolongar o mantener la liberación, por ejemplo, recubriendo o embebiendo el material en partículas en polímeros, cera o similares.

- 35 Los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden acoplarse con polímeros solubles como vehículos de fármaco dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxi-propilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilspartimidafenol, o polióxido de etileno-polilisina sustituido con restos de palmitoilo. Además, los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden acoplarse a un tipo de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, caprolactona de polepsilon, ácido polihidroxi butírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, poliácridatos y copolímeros de bloque anfipáticos reticulados o hidrogels.

- 40 En otro aspecto, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación es una forma de dosificación oral líquida. Los líquidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires pueden prepararse en forma de dosis unitaria de tal forma que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una solución acuosa aromatizada de manera adecuada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno y sorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes, tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

- 50 En otro aspecto, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación es una forma de dosificación adaptada para su administración a un paciente por inhalación, por ejemplo, en forma de un polvo seco, un aerosol, una suspensión, o una solución. En una realización, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación es una forma de dosificación adaptada para su administración a un paciente por inhalación en forma de un polvo seco. En una realización adicional, la composición para su uso de acuerdo con la invención es una forma de dosificación adaptada para su administración a un paciente por inhalación mediante un nebulizador.

Las composiciones en polvo seco para su administración al pulmón por inhalación comprenderán típicamente un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en forma de un polvo finamente dividido junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables en forma de polvos finamente divididos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables particularmente adecuados para su uso en polvos secos se conocen por los expertos en la materia e incluyen lactosa, almidón, manitol, y mono-, di- y polisacáridos. El polvo finamente dividido puede prepararse mediante, por ejemplo, micronización y molienda. En general, el compuesto de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) puede definirse mediante un valor de D_{50} de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

El polvo seco puede administrarse al paciente a través de un inhalador de polvo seco de depósito (RDPI) que tiene un depósito adecuado para almacenar múltiples dosis (no medidas) de medicamento en forma de polvo seco. Los RDPI incluyen típicamente un medio para medir cada dosis de medicamento del depósito en una posición de administración. Por ejemplo, los medios de medida pueden comprender un vaso medidor, que es móvil desde una primera posición donde el vaso puede llenarse con medicamento del depósito hasta una segunda posición donde la dosis de medicamento medida se hace disponible al paciente para inhalación.

Como alternativa, el polvo seco puede presentarse en cápsulas (por ejemplo, de gelatina o plástico), cartuchos, o envases de tipo blíster para su uso en un inhalador de polvo seco multidosis (MDPI). Los MDPI son inhaladores en los que el medicamento está comprendido en un envase multidosis que contiene (o porta de otro modo) múltiples dosis definidas (o partes de las mismas) de medicamento. Cuando el polvo seco se presenta como un envase de tipo blíster, comprende múltiples blísteres para contener el medicamento en forma de polvo seco. Los blísteres están ordenados típicamente de forma regular para facilitar la liberación del medicamento de los mismos. Por ejemplo, los blísteres pueden disponerse en una forma generalmente circular en un envase de tipo blíster en forma de disco, o puede elongarse la forma de los blísteres, por ejemplo, comprendiendo una tira o cinta. Cada cápsula, cartucho o blíster puede, por ejemplo, contener entre 20 μg -10 mg del compuesto de fórmula (VI) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Pueden formularse aerosoles suspendiendo o disolviendo un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un propulsor licuado. Los propulsores adecuados incluyen halocarburos, hidrocarburos, y otros gases licuados. Los propulsores representativos incluyen: triclorofluorometano (propulsor 11), diclorofluorometano (propulsor 12), diclorotetrafluoroetano (propulsor 114), tetrafluoroetano (HFA-134a), 1,1-difluoroetano (HFA-152a), difluorometano (HFA-32), pentafluoroetano (HFA-12), heptafluoropropano (HFA-227a), perfluoropropano, perfluorobutano, perfluoropentano, butano, isobutano y pentano. Los aerosoles que comprenden un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos se administrarán típicamente a un paciente a través de un inhalador de dosis medida (MDI). Dichos dispositivos se conocen por los expertos en la materia.

El aerosol puede contener excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales usados típicamente con los MDI, tales como tensioactivos, lubricantes, codisolventes y otros excipientes para mejorar la estabilidad física de la formulación, para mejorar el rendimiento de la válvula, para mejorar la solubilidad o para mejorar el sabor.

Por lo tanto, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación puede ser una formulación farmacéutica en aerosol que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno como propulsor, opcionalmente en combinación con un tensioactivo y/o un codisolvente.

En otro aspecto, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación puede ser una formulación farmacéutica en aerosol en la que el propulsor se selecciona entre 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano y mezclas de los mismos.

Las formulaciones para su uso de acuerdo con la divulgación pueden tamponarse mediante la adición de agentes tamponadores adecuados.

Las cápsulas y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador, por ejemplo, de gelatina, pueden formularse conteniendo una mezcla de polvo para inhalación de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una base de polvo adecuada, tal como lactosa o almidón. Cada cápsula o cartucho puede contener generalmente de 20 μg a 10 mg del compuesto de fórmula (VI) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Como alternativa, el compuesto de fórmula (VI) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede presentarse sin excipientes, tales como lactosa.

La proporción del principio activo de fórmula (VI) o de la sal farmacéuticamente aceptable del mismo en las composiciones locales para su uso de acuerdo con la divulgación depende del tipo exacto de formulación que se va a preparar, pero generalmente estará dentro del intervalo de un 0,001 a un 10 % en peso. En general, para la mayoría de tipos de preparaciones, la proporción usada estará en el intervalo de un 0,005 a un 1%, por ejemplo, de un 0,01 a un 0,5%. Sin embargo, en los polvos para inhalación o insuflación, la proporción usada estará normalmente en el intervalo de un 0,1 a un 5%.

- Las formulaciones en aerosol se disponen preferentemente de tal modo que cada dosis medida o "chorro" de aerosol contenga de 20 µg a 10 mg, preferentemente de 20 µg a 2000 µg, más preferentemente de aproximadamente 20 µg a 500 µg de un compuesto de fórmula (IV). La administración puede ser una vez al día o varias veces al día, por ejemplo 2, 3, 4 u 8 veces, administrando por ejemplo 1, 2 o 3 dosis cada vez. La dosis diaria general con un aerosol se encontrará dentro del intervalo de 100 µg a 10 mg, preferentemente de 200 µg a 2000 µg. La dosis diaria general y la dosis medida administrada mediante cápsulas y cartuchos en un inhalador o insuflador será generalmente el doble a la administrada con formulaciones en aerosol.
- En el caso de formulaciones de aerosol en suspensión, el tamaño de partículas del fármaco particulado (por ejemplo, micronizado) debe ser tal que permita la inhalación de sustancialmente todo el fármaco en los pulmones tras la administración de la formulación en aerosol y por lo tanto será de menos de 100 micrómetros, de manera deseable de menos de 20 micrómetros, y en particular en el intervalo de 1 a 10 micrómetros, tal como de 1 a 5 micrómetros, más preferentemente de 2 a 3 micrómetros.
- Las formulaciones para su uso de acuerdo con la divulgación pueden prepararse mediante la dispersión o disolución del medicamento y un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en el propulsor seleccionado en un envase adecuado, por ejemplo, con la ayuda de ultrasonidos o una mezcladora de alta cizalla. El procedimiento se lleva a cabo deseablemente en condiciones de humedad controladas.
- La estabilidad química y física y la aceptabilidad farmacéutica de las formulaciones en aerosol para su uso de acuerdo con la divulgación se determinarán mediante técnicas bien conocidas para los expertos en la materia. Así pues, por ejemplo, la estabilidad química de los componentes puede determinarse mediante un ensayo de HPLC, por ejemplo, tras un almacenamiento prolongado del producto. Los datos de estabilidad física pueden obtenerse mediante otras técnicas analíticas convencionales, tales como, por ejemplo, mediante una prueba de fugas, mediante una prueba de suministro de la válvula (peso medio de la dosis por actuación), mediante un ensayo de reproducibilidad de la dosis (principio activo por actuación) y análisis de la distribución de la pulverización.
- La estabilidad de las formulaciones de aerosol en suspensión para su uso de acuerdo con la divulgación puede medirse mediante técnicas convencionales, por ejemplo, midiendo la distribución del tamaño de floculación usando un instrumento de retrodispersión de la luz o midiendo la distribución del tamaño de partícula mediante el procedimiento analítico de cascada de impacto o mediante el de "doble impactador". Tal como se usa en el presente documento, la referencia al ensayo de "doble impactador" significa "la determinación de la deposición de la dosis emitida en inhaladores a presión usando un aparato A", tal como se define en la Farmacopea Británica de 1988, páginas A204-207, Apéndice XVII C. Dichas técnicas permiten calcular la "fracción respirable" de las formulaciones en aerosol. Un procedimiento usado para calcular la "fracción respirable" es mediante referencia a la "fracción de partículas finas" que es la cantidad de principio activo recogido en la cámara de impacto inferior por actuación, expresada como un porcentaje de la cantidad total de principio activo administrada por actuación usando el procedimiento de doble impacto descrito anteriormente.
- La expresión "inhalador de dosis medida" o MDI significa una unidad que contiene un envase, una tapa asegurada que recubre al envase y una válvula para medir la formulación situada en la tapa. El sistema MDI incluye un dispositivo de canalización adecuado. Los dispositivos de canalización adecuados comprenden, por ejemplo, un accionador de válvula y un pasaje de forma cilíndrica o cónica a través del cual puede administrarse el medicamento desde el envase relleno a través de la válvula medidora a la nariz o boca de un paciente, tal como un actuador bucal.
- Los envases MDI comprenden generalmente un envase capaz de soportar la presión de vapor del propulsor usado, tal como un frasco de plástico o de vidrio recubierto de plástico, o preferentemente un recipiente metálico, por ejemplo, de aluminio o una aleación del mismo que puede estar opcionalmente anodizado, lacado y/o plastificado (por ejemplo, el documento WO 96/32099 en el que todas o parte de las superficies internas están recubiertas con uno o más polímeros de fluorocarbono opcionalmente en combinación con uno o más polímeros no fluorocarbonados), estando el envase cerrado con una válvula medidora. La tapa puede asegurarse al envase mediante soldadura por ultrasonidos, enroscado o crimpado. Los MDI enseñados en el presente documento pueden producirse mediante procedimientos de la técnica (por ejemplo, véase Byron, anteriormente citado y el documento WO 96/32099). Preferentemente, el envase está dotado con un conjunto de tapa, situándose una válvula medidora de fármaco en la tapa, y crimpándose en su sitio dicha tapa.
- En una realización, la superficie interna metálica del envase está recubierta con un fluoropolímero, más preferentemente mezclado con un no-fluoropolímero. En otra realización, la superficie interna metálica del recipiente está recubierta con una mezcla de polímero de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES). En una realización adicional, toda la superficie interna metálica del recipiente está recubierta con una mezcla de polímero de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES).
- Las válvulas medidoras se diseñan para administrar una cantidad medida de la formulación por actuación e incorporan una junta para evitar las fugas de propulsor a través de la válvula. La junta puede comprender cualquier material elastomérico adecuado, tal como, por ejemplo, polietileno de baja densidad, clorobutilo, bromobutilo, EPDM, gomas de butadieno-acrilonitrilo de color blanco y negro, goma de butilo y neopreno. Las válvulas adecuadas están disponibles comercialmente a través de fabricantes conocidos en la industria de los aerosoles, por ejemplo, de Valois, Francia (por

ejemplo, DF10, DF30, DF60), Bepak plc, R.U. (por ejemplo, BK300, BK357) y 3M-Neotech Ltd, R.U. (por ejemplo, Spraymiser™).

5 En varias realizaciones, los MDI pueden usarse también conjuntamente con otras estructuras, tales como envolturas para almacenar y contener los MDI, incluyendo aquellos descritos en las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.119.853, 6.179.118; 6.315.112; 6.352.152; 6.390.291; y 6.679.374, así como unidades contadoras de dosis, tales como aquellas descritas en las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.360.739 y 6.431.168

10 Pueden emplearse procedimientos y maquinaria de fabricación en bruto convencionales conocidos para los expertos en la técnica de fabricación de aerosoles farmacéuticos para la preparación de lotes a gran escala para la producción comercial de envases rellenos. Así pues, por ejemplo, en un procedimiento de fabricación en bruto para preparar formulaciones de aerosol en suspensión se crimpa una válvula medidora sobre un recipiente de aluminio para formar un envase vacío. El medicamento en partículas se añade a un vaso de carga y se rellena a presión un propulsor licuado junto con los excipientes opcionales a través del vaso de carga en un vaso de fabricación. La suspensión de fármaco se mezcla antes de la recirculación a una máquina de relleno y se carga una alícuota de la suspensión de fármaco a través de la válvula medidora al envase. en un procedimiento de fabricación en bruto de ejemplo para preparar formulaciones de aerosol en solución se crimpa una válvula medidora sobre un recipiente de aluminio para formar un envase vacío. El propulsor licuado junto con los excipientes opcionales y el medicamento disuelto se rellena a presión a través del vaso de carga en un vaso de fabricación.

15 En un procedimiento alternativo, se añade una alícuota de la formulación licuada a un envase abierto en condiciones lo suficientemente frías como para asegurarse de que la formulación no se evapora, y después se crimpa una válvula medidora al envase.

20 Normalmente, en lotes preparados para uso farmacéutico, se comprueba el peso de cada envase relleno, se codifica con un número de lote y se envasa en una bandeja para su almacenamiento antes de las pruebas de liberación.

25 Las suspensiones y soluciones que comprenden un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo también pueden administrarse a un paciente a través de un nebulizador. El agente disolvente o de suspensión empleado para la nebulización puede ser cualquier líquido farmacéuticamente aceptable, tal como agua, suero salino acuoso, alcoholes o glicoles, por ejemplo, etanol, alcohol isopropílico, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, etc., o mezclas de los mismos. Las soluciones salinas utilizan sales que muestran poca o ninguna actividad farmacológica tras su administración. Pueden usarse tanto sales orgánicas, tales como sales de metal alcalino o halogenadas de amonio, por ejemplo, cloruro sódico, cloruro potásico o sales orgánicas, tales como sales de potasio, sodio y amonio o ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, etc. para este fin.

30 Pueden añadirse otros excipientes farmacéuticamente aceptables a la suspensión o solución. El compuesto de fórmula (VI) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede estabilizarse mediante la adición de un ácido inorgánico, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y/o ácido fosfórico; un ácido orgánico, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético, y ácido tartárico, etc., un agente complejante, tal como EDTA o ácido cítrico y sales de los mismos; o un antioxidante, tal como vitamina E o ácido ascórbico. Estos pueden usarse solos o juntos para estabilizar al compuesto de fórmula (VI) o a la sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Pueden añadirse conservantes, tal como cloruro de benzalconio o ácido benzoico y sales de los mismos. Puede añadirse particularmente tensioactivo para mejorar la estabilidad física de las suspensiones. Estos incluyen lecitina, dioctilsulfosuccinato disódico, ácido oleico y ésteres de sorbitán.

35 En un aspecto adicional, la composición para su uso de acuerdo con la divulgación es una forma de dosificación adaptada para administración intranasal.

40 Las formulaciones para su aplicación por la nariz pueden incluir formulaciones en aerosol a presión y formulaciones acuosas administradas a la nariz a través de una bomba a presión. Son de interés particular las formulaciones que no están a presión y que están adaptadas para su administración tópica a la cavidad nasal. Las formulaciones adecuadas contienen agua como diluyente o vehículo para este fin. Las formulaciones acuosas para su administración al pulmón o a la nariz pueden proporcionarse con excipientes convencionales, tales como agentes tamponadores, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las formulaciones acuosas también pueden administrarse a la nariz mediante nebulización.

45 Los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse como una formulación fluida para su administración a través de un dispensador de fluidos, por ejemplo, un dispensador de fluidos que tenga una boquilla dispensadora o un orificio de dispensación a través del cual se dispensa una dosis medida de la formulación fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bomba del dispensador de fluido. Dichos dispensadores de fluido se proporcionan generalmente con un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, administrándose las dosis tras activaciones secuenciales de la bomba. La boquilla u orificio de dispensación pueden estar configurados para su inserción en las fosas nasales del usuario para administrar por pulverización la formulación fluida al interior de la cavidad nasal. Se describe e ilustra un dispensador de fluido del tipo anteriormente mencionado en el documento WO 05/044354. El dispensador tiene un alojamiento que

aloja un dispositivo de descarga de fluido que tiene una bomba de compresión montada sobre un recipiente para contener una formulación fluida. El alojamiento tiene al menos una palanca lateral accionable con el dedo que se mueve hacia el interior respecto al alojamiento para empujar al contenedor hacia arriba para hacer que la bomba comprima y bombee una dosis medida de la formulación hacia fuera del vástago de la bomba a través de una boquilla nasal del alojamiento. En una realización, el dispensador de fluido es del tipo general ilustrado en las Figuras 30-40 del documento WO 05/044354.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración intranasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micrómetros que se administra mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales a partir de un envase del polvo sujeto próximo a la nariz. Las composiciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para su administración como una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos pensados para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del paciente durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el principio activo puede suministrarse a partir del parche mediante iontoforesis como se describe generalmente en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizadores, aerosoles o aceites.

Las pomadas, cremas y geles pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de un agente espesante y/o gelificante adecuado y/o disolventes. Dichas bases por lo tanto pueden, por ejemplo, incluir agua y/o un aceite, tal como parafina líquida o un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete o aceite de linaza, o un disolvente, tal como polietilenglicol. Los agentes espesantes y agentes gelificantes que pueden usarse de acuerdo con la naturaleza de la base incluyen parafina blanda, estearato de magnesio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, lanolina, cera de abeja, carboxipolimetileno y derivados de celulosa, y/o monoestearato de glicerilo y/o agentes emulsionantes no iónicos.

Pueden formularse lociones con una base acuosa u oleosa y en general contendrán también uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión o agentes espesantes.

Los polvos para aplicación externa pueden formarse con la ayuda de cualquier base de polvo adecuada, por ejemplo, talco, lactosa o almidón. Pueden formularse gotas con una base acuosa o no acuosa que también comprende uno o más agentes de dispersión, agentes solubilizantes, agentes de suspensión o conservantes.

Las preparaciones tópicas pueden administrarse en una o más aplicaciones al día sobre el área afectada; pueden usarse ventajosamente vendajes oclusivos sobre zonas de la piel. La administración continua o prolongada puede lograrse mediante un sistema de depósito adhesivo.

Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las composiciones pueden aplicarse como una pomada o crema tópica. Cuando se formulan en una pomada, el compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el compuesto de fórmula (VI) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección acuosas y no acuosas estériles que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hagan que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones acuosas y no acuosas estériles que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en envases monodosis o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en estado liofilizado requiriendo únicamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

De acuerdo con la divulgación, los compuestos de fórmula (VI) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden usarse en combinación con otros uno o más agentes terapéuticos, por ejemplo, seleccionados entre agentes antiinfecciosos, agentes antiinflamatorios e inmunomoduladores, en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto adicional, un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con otros uno o más agentes terapéuticamente activos para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

En una realización, la divulgación abarca una combinación que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con otros uno o más agentes terapéuticos para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Una realización de la divulgación abarca el uso de combinaciones que comprenden otros uno o más agentes terapéuticos.

Será evidente para un experto en la materia que, en los casos en donde sea adecuado, el otro ingrediente farmacéutico (o los otros ingredientes farmacéuticos) puede usarse en forma de sales, por ejemplo, como sales de metal alcalino o de amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo, ésteres de alquilo inferior, o como solvatos, por ejemplo, hidratos para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o características físicas, tales como solubilidad, del ingrediente terapéutico. También será evidente que, en los casos en donde sea adecuado, los ingredientes terapéuticos pueden usarse en forma ópticamente pura.

Los agentes antiinfecciosos adecuados incluyen antibióticos y antivirales.

Los agentes antiinflamatorios adecuados incluyen corticoesteroides. Los corticoesteroides adecuados que pueden usarse en combinación con los compuestos de fórmula (VI) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son aquellos corticoesteroides orales e inhalados y sus profármacos que tienen actividad antiinflamatoria. Los ejemplos incluyen metil prednisolona, prednisolona, dexametasona, propionato de fluticasona, S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico, S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico (furoato de fluticasona), S-(2-oxo-tetrahydro-furan-3S-il)éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico, S-cianometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -(2,2,3,3-tetrametilciclo-propilcarbonil)oxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico y S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -(1-metilciclopropilcarbonil)oxi-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico, ésteres de beclometasona (por ejemplo, el éster de 17-propionato o el éster de 17,21-dipropionato), budesónida, flunisolida, ésteres de mometasona (por ejemplo, furoato de mometasona), acetónida de triamcinolona, roflepónida, ciclesonida (16 α ,17-[[[R]-ciclohexilmetilen]bis(oxi)]-11 β ,21-dihidroxi-pregna-1,4-dieno-3,20-diona), propionato de butixocort, RPR-106541, y ST-126. Los corticoesteroides preferidos incluyen propionato de fluticasona, S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico, S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico, S-cianometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -(2,2,3,3-tetrametilciclo-propilcarbonil)oxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico y S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -(1-metilciclopropilcarbonil)oxi-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico. En una realización, el corticoesteroide es S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico.

Los ejemplos de corticoesteroides pueden incluir aquellos descritos en los documentos WO 2002/088167, WO2002/100879, WO2002/12265, WO2002/12266, WO2005/005451, WO2005/005452, WO2006/072599 y WO2006/072600.

Los compuestos no esteroideos que tienen agonismo de glucocorticoides que pueden poseer selectividad por la transrepresión frente a la transactivación y que pueden ser útiles en terapia combinada incluyen aquellos abarcados en las siguientes patentes: WO03/082827, WO98/54159, WO04/005229, WO04/009017, WO04/018429, WO03/104195, WO03/082787, WO03/082280, WO03/059899, WO03/101932, WO02/02565, WO01/16128, WO00/66590, WO03/086294, WO04/026248, WO03/061651 y WO03/08277. Los compuestos no esteroideos adicionales están abarcados en: WO2006/000401, WO2006/000398 y WO2006/015870.

Los ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

Los ejemplos de AINE incluyen cromoglicato de sodio, nedocromil sódico, inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (por ejemplo, teofilina, inhibidores de PDE4 o inhibidores mixtos de PDE3/PDE4), antagonistas del leucotrieno, inhibidores de la síntesis de leucotrienos (por ejemplo, montelukast), inhibidores de iNOS, inhibidores de triptasa y elastasa, antagonistas de integrina beta-2 y agonistas o antagonistas del receptor de adenosina (por ejemplo, agonistas de adenosina 2a), antagonistas de citocinas (por ejemplo, antagonistas de quimiocinas, tales como un antagonista de CCR3) o inhibidores de la síntesis de citocinas, o inhibidores de 5-lipooxigenasa. Un iNOS (inhibidor inducible de la sintasa de óxido nítrico) es preferentemente para administración oral. Los ejemplos de inhibidores iNOS incluyen aquellos desvelados en los documentos WO 93/13055, WO98/30537, WO02/50021, WO95/34534 y WO99/62875. Los ejemplos de inhibidores de CCR3 incluyen aquellos desvelados en los documentos WO 02/26722.

En una realización, la divulgación proporciona el uso de los compuestos de fórmula (VI) en combinación con un inhibidor de fosfodiesterasa 4 (PDE4), especialmente en el caso de una formulación adaptada para inhalación. El inhibidor específico de PDE4 útil en este aspecto de la divulgación puede ser cualquier compuesto conocido por inhibir

a la enzima PDE4 o que se descubra que actúa como inhibidor de PDE4, y que son únicamente inhibidores de PDE4, no compuestos que inhiban a otros miembros de la familia de PDE, tales como PDE3 y PDE5, así como a PDE4.

Los compuestos incluyen ácido *cis*-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metiloxifenil)ciclohexan-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ona y *cis*-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ol]. Asimismo, ácido *cis*-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]ciclohexan-1-carboxílico (también conocido como cilomilast) y sus sales, ésteres, profármacos o formas físicas, que se describe en la Patente de los Estados Unidos 5.552.438 publicada el 03 de septiembre de 1996;

Otros compuestos incluyen AWD-12-281 de Elbion (Hofgen, N. y col. 15th EFMC Int Symp Med Chem (6-10 de septiembre, Edimburgo) 1998, Abst P.98; N° de referencia CAS 247584020-9); un derivado de 9-benciladenina denominado NCS-613 (INSERM); D-4418 de Chiroscience y Schering-Plough; un inhibidor de PDE4 de benzodiazepina identificado como CI-1018 (PD-168787) y atribuido a Pfizer; un derivado de benzodioxol desvelado por Kyowa Hakko en el documento WO 99/16766; K-34 de Kyowa Hakko; V-11294A de Napp (Landells, L.J. y col., Eur Resp J [Annu Cong Eur Resp Soc (19-23 de septiembre, Ginebra) 1998] 1998, 12 (Supl. 28): Abst P2393); roflumilast (n.º de referencia CAS 162401-32-3) y una ftalazinona (documento WO 99/47505) de Byk-Gulden; Pumafentrina, (-)-p-[(4aR*,10bS*)-9-etoxi-1,2,3,4,4a,10b-hexahidro-8-metoxi-2-metilbenzo[c][1,6]naftiridin-6-il]-N,N-diisopropilbenza mida que es un inhibidor mixto de PDE3/PDE4 que se ha preparado y publicado por Byk-Gulden, actualmente Altana; arofilina, en desarrollo por Almirall-Prodesfarma; VM554/UM565 de Vernalis; o T-440 (Tanabe Seiyaku; Fuji, K. y col. J Pharmacol Exp Ther, 1998, 284(1): 162), y T2585.

Se desvelan compuestos adicionales en las solicitudes internacionales de patente publicadas WO 04/024728 (Glaxo Group Ltd), WO 04/056823 (Glaxo Group Ltd) y WO 04/103998 (Glaxo Group Ltd) (por ejemplo, el Ejemplo 399 o 544 desvelado en estas). Se desvelan compuestos adicionales en los documentos WO2005/058892, WO2005/090348, WO2005/090353, y WO2005/090354, todos a nombre de Glaxo Groul Limited.

Los inmunomoduladores adecuados incluyen inhibidores de COX-2.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente antiinfeccioso para su uso en el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente antiinflamatorio para su uso en el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente inmunomodulador para su uso en el tratamiento o la prevención de la infección por el virus de la gripe.

Las combinaciones citadas anteriormente pueden presentarse de manera conveniente para su uso en forma de una composición farmacéutica y por lo tanto las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se ha definido anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe representan un aspecto adicional de la divulgación.

Los compuestos individuales de dichas combinaciones pueden administrarse secuencialmente o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. En una realización, los compuestos individuales se administrarán simultáneamente en una formulación farmacéutica combinada. Las dosis adecuadas de agentes terapéuticos conocidos serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto adicional, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con otro agente terapéuticamente activo para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente antiinfeccioso para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente antiinflamatorio para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Por lo tanto, la divulgación proporciona, en un aspecto adicional, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (VI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente inmunomodulador para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por el virus de la gripe.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

- 5 Cuando se da el nombre de un proveedor comercial después del nombre de un compuesto o un reactivo, por ejemplo "compuesto X (Aldrich)" o "compuesto X/Aldrich", esto significa que el compuesto X puede obtenerse de un proveedor comercial, tal como el proveedor comercial nombrado. Si no se hace referencia en el presente documento, el compuesto o reactivo puede adquirirse de un proveedor convencional, tal como Sigma Aldrich Lancaster, Fluorochem, TCI etc.

Los nombres de los Ejemplos se han obtenido usando un programa de nombrado de compuestos hace coincidir la estructura con el nombre (por ejemplo, ACD/Name Lote v. 9.0).

10 Detalles experimentales generales**Procedimientos de Cromatografía líquida Espectroscopía de masas (CLEM)**

Los análisis de CLEM se han realizado usando uno de los procedimientos listados a continuación.

Procedimiento A:

	La instrumentación de CLEM consiste en lo siguiente:
Columna: Acquity	UPLC BEH C ₁₈ , 1,7 µm 2,1 mm x 50 mm. Horno de columna ajustado a 40 grados centígrados
Disolvente A:	Agua con ácido fórmico al 0,1 % + Acetato de amonio 10 mM
Disolvente B:	MeCN: agua 95:5 + ácido fórmico al 0,05 %
Volumen de inyección:	0,5 µl
Técnica de inyección:	Sobrellenado parcial en bucle
Detección de UV:	de 220 a 330 nm
Velocidad de muestreo UV:	puntos pos segundo
Intervalo de exploración de EM:	de 100 a 1000 uma
Velocidad de exploración de EM:	exploración de 0,2 segundos con un retraso de exploración interna de 0,1 segundos
Función de exploración de EM:	Electronebulización con intercambio negativo posterior
Tiempo del ciclo:	2 minutos y 30 segundos

15

Gradiente:

Tiempo	Flujo ml/min	% de A	% de B
0	1	97	3
0,1	1	97	3
1,4	1	0	100
1,9	1	0	100
2	1	97	3

Procedimiento B:

- 20 Los análisis de HPLC se realizaron en una columna Sunfire C18 (d.i. 30 mm x 4,6 mm, diámetro de relleno de 3,5 µm) a 30 grados centígrados.

Disolvente A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua.

Disolvente B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	3	97	3
0,1	3	97	3
4,2	3	0	100
4,8	3	0	100
4,9	3	97	3
5,0	3	97	3

25

La detección UV fue una señal promediada desde una longitud de onda de 210 nm a 350 nm y se registraron espectros de masas en un espectrómetro usando ionización de electronebulización en modo positivo y negativo con exploración alterna.

Procedimiento C:

- 5 Los análisis de HPLC se realizaron en un Phenomenex Luma C18(2) (d.i. 50 mm x 2 mm, diámetro de relleno de 3 µm, o equivalente validado) a 40 grados centígrados.

Disolvente A = solución al 0,05 % v/v de TFA en agua.
Disolvente B = solución al 0,05 % v/v de TFA en acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	100	0
8	1	5	95
8,01	1	100	0

10

La longitud de onda de detección UV fue dependiente del analito y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando electronebulización de ion positivo.

Procedimiento D:

- 15 Los análisis de HPLC se realizaron en un Phenomenex Luma C18(2) (d.i. 50 mm x 2 mm, diámetro de relleno de 3 µm, o equivalente validado) a 60 grados centígrados.

Disolvente A = solución al 0,05 % v/v de TFA en agua.
Disolvente B = solución al 0,05 % v/v de TFA en acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1,5	100	0
2,5	1,5	5	95
2,7	1,5	5	95
2,9	1,5	100	0

- 20 La longitud de onda de detección UV fue dependiente de analito y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando electronebulización de ion positivo.

Procedimiento E:

Los análisis de HPLC se realizaron en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. 50 mm x 2,1 mm, diámetro de relleno 1,7 µm) a 40 grados centígrados.

- 25 Disolvente A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua.
Disolvente B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en Acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% A	% B
0	1	97	3
1,5	1	0	100
1,9	1	0	100
2,0	1	97	3

- 30 La detección UV fue una señal promediada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento F:

Espectrómetro de masas Waters ZQ funcionando en modo de electronebulización de ion positivo, intervalo de masas 100 - 1000 uma.

UV longitud de onda: 215 - 330 nm
 Columna: d.i. 3,3 cm x 4,6 mm, 3 µm ABZ+PLUS
 Caudal: 3 ml/min

- 5 Volumen de inyección: 5 µl
 Disolvente A: MeCN al 95 % + 0,05 % de una solución al 1 % v/v de ácido fórmico en agua
 Disolvente B: solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetato amónico 10 mmol (ac.)
 Gradiente: Se usaron mezclas de Disolvente A y Disolvente B de acuerdo con los siguientes perfiles de gradiente (expresados como % de Disolvente A en la mezcla): 0 % de A; 0,7 min, 0 - 100 % de A; 3,5 min, 100 % de A; 0,4 min, 100 - 0 % de A; 0,2 min.

10 **Procedimientos de HPLC preparativa automatizada dirigida a masas**

Los procedimientos para la HPLC preparativa automatizada dirigida a masas usados para la purificación de los compuestos se describen a continuación:

Procedimiento A

Columna

- 15 La columna usada es típicamente una columna Supelco LCABZ++ cuyas dimensiones son 20 mm de diámetro interno por 100 mm de longitud. El tamaño de partícula de la fase estacionaria es 5 µm.

Disolventes

- 20 A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,1 %
 B: Disolvente orgánico = 95:5 de MeCN: agua + ácido fórmico 0,05 %
 Disolvente de preparación = 80:20 de MeOH:agua+acetato de amonio 50 mMol
 Disolvente de aclarado de aguja = 80:10:10 de MeOH:agua:DMSO

Procedimientos

Hay cinco procedimientos usados dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés.

- 25 Todos ellos tienen un tiempo de proceso de 15 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos, seguido de una etapa de enjuague y reequilibrado de la columna de 5 minutos.

- 30 TMP 1,5-2,2 = 0-30 % de B
 TMP 2,0-2,8 = 5-30 % de B
 TMP 2,5-3,0 = 15-55 % de B
 TMP 2,8-4,0 = 30-80 % de B
 TMP 3,8-5,5 = 50-90 % de B

Caudal

Todos los procedimientos anteriores tienen un caudal de 20 ml/min

Se piensa que los compuestos básicos aislados por este procedimiento son sales formiato.

Procedimiento B

- 35 Columnas

Columna prep. de pequeña escala

Columna Supelcosil ABZ+Plus cuyas dimensiones son 21,2 mm de diámetro interno por 100 mm de longitud. El tamaño de partícula de fase estacionaria es 5 µm.

Columna prep. de gran escala

- 40 Columna Supelcosil ABZ+Plus cuyas dimensiones son 30,0 mm de diámetro interno por 150 mm de longitud. El tamaño de partícula de fase estacionaria es 12 µm.

Disolventes

- 45 A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,1 %
 B: Disolvente orgánico = 95:5 de MeCN:agua + ácido fórmico al 0,05 %
 Disolvente de preparación para ZQ = 80:20 de MeOH:agua + Acetato de amonio 50 mMol
 2767 Disolvente de aclarado de aguja = 80:10:10 de MeOH:agua:DMSO

Procedimientos de prep. a pequeña escala para hasta 30 mg

Hay diez procedimientos disponibles para su uso. La elección del procedimiento depende del tiempo de retención analítico del compuesto de interés (TMP = según se determina por el Procedimiento A de CLEM anterior).

5 Cinco procedimientos tienen un tiempo de proceso de 15 minutos, este está compuesto de un gradiente de 10 minutos, seguido de una etapa de enjuague y reequilibrado de la columna de 5 minutos. Los otros cinco tienen un tiempo de proceso de 25 minutos. Aquí, los procedimientos tienen los mismos puntos de partida y finales para el contenido orgánico de B, pero los gradientes se han prolongado durante un periodo de 20 minutos para proporcionar una resolución cromatográfica mayor.

- 10
- TMP 1,5-2,2 = 00-30 % de B
 - TMP 2,0-2,8 = 10-40 % de B
 - TMP 2,5-3,0 = 15-55 % de B
 - MDAP 2,8-4,0 = 30-80 % de B
 - MDAP 3,8-5,5 = 60-90 % de B

Los caudales para los procedimientos anteriores son 20 ml/min

15 Procedimientos para prep. a gran escala para hasta 90 mg

Debido a las diferentes dimensiones de columna y al tamaño de partícula de fase, el porcentaje de contenido orgánico varía ligeramente con los procedimientos a pequeña escala. Como para la pequeña escala, hay diez procedimientos disponibles para su uso. La elección del procedimiento depende del tiempo de retención analítico del compuesto de interés (TMP = según se determina por el Procedimiento A de CLEM anterior).

20 Cinco procedimientos tienen un tiempo de proceso de 15 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos, seguido de una etapa de enjuague y equilibrado de columna de 5 minutos. Los otros cinco tienen un tiempo de proceso de 25 minutos. Aquí, los procedimientos tienen los mismos puntos de partida y finales para el contenido orgánico de B pero los gradientes se han prolongado durante un periodo de 20 minutos para proporcionar una resolución cromatográfica mayor.

- 25
- TMP 1,5-2,2 = 00-30 % B
 - TMP 2,0-2,8 = 10-40 % B
 - TMP 2,5-3,0 = 25-55 % B
 - TMP 2,8-4,0 = 40-75 % B
 - TMP 3,8-5,5 = 60-90 % B

30 Los caudales para los procedimientos anteriores son 40 ml/min

Se piensa que los compuestos básicos aislados por este procedimiento son sales formiato.

Procedimiento C

Detalles de columna: Zorbax Eclipse XDB-C18 prep HT (dimensiones 212 x 100 mm, relleno de 5 µm)

35 Software/hardware: hardware LC/MSD Agilent 1100 series, software de purificación chemstation 32. Se recogen en un accionador iónico de uv/masas

Disolventes:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua.
B = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo.

Velocidad de disolvente 20 ml/min, elución en gradiente:

40 1 min de agua al 90 % (TFA al 0,1 %):MECN al 10 % (TFA al 0,1 %) aumentando durante 9 min a agua al 5 % (TFA al 0,1 %):MECN al 95 % (TFA al 0,1 %) para eluir los compuestos.

Procedimiento D

Detalles de columna: columna XBRIDGE C18 (di 100 mm x 19 mm, diámetro de relleno 5 µM)

Disolventes

45 A = bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución ac. de amonio
B = Acetonitrilo

La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento E – pH alto

Detalles de columna: columna Waters_XBRIDGE Prep C18, 5 um OBD (19 x 100 mm)

Los disolventes empleados fueron:

A = Bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución ac. de amonio

5 B = Acetonitrilo + amoniaco ac. al 0,1 %

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos. La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

10 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.
La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento F – pH bajo

Detalles de columna: columna SUNFIRE C18 (di, 100 mm x 19 mm, diámetro de relleno 5 uM)

15 Los disolventes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua.

B = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo.

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

20 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento G

La purificación de HPCL se realizó en una columna Sunfire C18 (d.i. 100 mm x 19 mm, diámetro de relleno 5 µm) a temperatura ambiente.

25 Los disolventes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en Agua.

B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en Acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	20	85	15
1	20	85	15
10	20	45	55
10,5	20	1	99
15	20	1	99

30 La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm.

Procedimiento H – pH alto

Detalles de columna: columna Waters_XBRIDGE Prep C18, 5 um OBD (30 x 150 mm)

Los disolventes empleados fueron:

A = Bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución ac. de amonio

35 B = Acetonitrilo + amoniaco ac. al 0,1 %

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos. La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento I – pH bajo

Detalles de columna: columna SUNFIRE C18 (di 30 x 150 mm, diámetro de relleno 5 µM)

Los disolventes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en Agua.

5 B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en Acetonitrilo.

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos. La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento J

10 Detalles de columna: columna XBRIDGE Shield RP18 (100 x 19 mm, diámetro de relleno 5 µM)

Los disolventes empleados fueron:

A = Bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución ac. de amonio

B = Metanol

15 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos. La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento K

Fase estacionaria

La fase estacionaria usada para esta purificación fue Sunfire C18 con un tamaño de partícula de 5 µm.

20 Columna preparativa a pequeña escala

Dimensión de columna: d.i. 100 mm x 19 mm

Columna preparativa a gran escala

Dimensión de columna: d.i. 150 mm x 30 mm

Eluyente

25 Los eluyentes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua.

B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo.

Procedimientos para prep. a pequeña escala para hasta 30 mg de muestra en bruto

30 Hay diez procedimientos preparativos orientados a pequeña escala disponibles para su uso. La elección del procedimiento depende de dos factores

1. El tiempo de retención (TR) del componente o componentes de interés en el procedimiento de CLEM analítica genérico.
2. La presencia de impurezas de elusión estrecha con el componente o componentes de interés.

35 A partir del TR analítico, se realiza la elección de uno de los cinco procedimientos prep. orientados a pequeña escala. Los procedimientos prep. a pequeña escala contienen un gradiente de 10 minutos sobre un intervalo orgánico especificado, seguido de un enjuague de 5 minutos, excepto el procedimiento más polar, que contiene un gradiente de 7 minutos sobre un intervalo orgánico especificado, seguido de un enjuague de 8 minutos. El tiempo de proceso total es 15 minutos.

40 Si hay impurezas de elusión muy cercana con respecto al componente o componentes de interés, entonces hay disponibles cinco procedimientos prep. orientados a pequeña escala extendidos. Los procedimientos prep. a pequeña escala extendidos contienen un gradiente de 20 minutos sobre el intervalo orgánico especificado, seguido de un enjuague de 5 minutos, excepto el procedimiento más polar que contiene un gradiente de 14 minutos sobre el intervalo orgánico especificado, seguido de un enjuague de 11 minutos. El tiempo total de proceso es 25 minutos.

Los caudales para todos los procedimientos a pequeña escala son 20 ml/min y la purificación se realiza a temperatura ambiente.

El volumen de inyección para prep. a pequeña escala es 500 µl.

5 A continuación se muestran 10 procedimientos prep. a pequeña escala y los intervalos orgánicos de los gradientes. Los gradientes son los mismos para procesos normales o extendidos.

5-30 % de B
15-55 % de B
30-85 % de B
50-99 % de B

10 80-99 % de B

En la etapa de enjuague, el eluyente B se eleva al 99 % en 0,5 minutos, después se mantiene ahí durante 4,5 minutos más.

Procedimientos para prep. a gran escala para hasta 90 mg de muestra en bruto

15 Hay diez procedimientos prep. orientados a gran escala disponibles para su uso. La elección del procedimiento depende de los mismos dos factores que para la prep. a pequeña escala. Los tiempos de proceso (gradiente y enjuague) son los mismos que para los procedimientos prep. a pequeña escala.

Los caudales para todos los procedimientos a gran escala son 40 ml/min y la purificación se realiza a temperatura ambiente.

El volumen de inyección para prep. a gran escala es 980 µl.

20 A continuación se muestran los 5 nombres de procedimiento a gran escala y los intervalos orgánicos de los gradientes. Los gradientes son los mismos tanto para procesos normales como extendidos.

5-30 % de B
15-55 % de B
30-85 % de B
50-99 % de B
80-99 % de B

25

En la etapa de enjuague, el eluyente B se eleva al 99 % en 0,5 minutos, después se mantiene ahí durante 4,5 minutos más.

Detección de UV

30 La detección UV para todos los procedimientos es una señal promediada a partir de todas las longitudes de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM:	Waters ZQ
Modo de ionización:	Electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna
Intervalo de exploración:	de 100 a 1000 uma
Tiempo de exploración:	0,50 segundos
Tiempo de espera mínimo entre exploraciones:	0,20 segundos

Procedimiento L

35 Sunfire, pH bajo

Detalles de columna: columna SUNFIRE C18 (di. 100 mm x 19 mm, 5 µm)

Los disolventes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua.
B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetoneitrilo.

40

Procedimiento A

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	95	5
1,0	20	95	5
10	20	70	30
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	95	5
14	20	95	5

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

- 5 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento B

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	85	15
1,0	20	85	15
10	20	45	55
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	85	15
14	20	85	15

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

- 10 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento C

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	70	30
1,0	70	70	30
10	20	15	85
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	70	30
14	20	70	30

- 15 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento D

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	50	50
1,0	20	50	50
10	20	1	99
12,5	20	1	99
13	20	50	50
14	20	50	50

- 20 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.
La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento E

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	20	80
1,0	20	20	80
7,0	20	1	99
12,5	20	1	99
13	20	20	80
14	20	20	80

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

- 5 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento M

Detalles de columna: columna SUNFIRE C18 (di. 100 mm x 19 mm, 5 um)

Los disolventes empleados fueron:

- 10 A = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua.
B = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo.

Los procedimientos posteriores se seleccionan en base al tiempo de retención analítico de los compuestos que se están purificando.

Procedimiento 1

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	95	5
1,0	20	95	5
10	20	70	30
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	95	5
14	20	95	5

- 15 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.
La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento 2

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	85	15
1,0	20	85	15
10	20	45	55
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	85	15
14	20	85	15

- 20 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.
La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.
- 25

Procedimiento 3

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	70	30
1,0	70	70	30
10	20	15	85
10,5	20	5	95
12,5	20	5	95
13	20	70	30
14	20	70	30

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

- 5 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento 4

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	50	50
1,0	20	50	50
10	20	1	99
12,5	20	1	99
13	20	50	50
14	20	50	50

La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

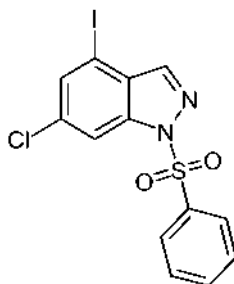
- 10 La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Procedimiento 5

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0,0	20	20	80
1,0	20	20	80
7,0	20	1	99
12,5	20	1	99
13	20	20	80
14	20	20	80

- 15 La recogida se accionó por uv, em o una combinación de las dos.

La detección UV fue a la longitud de onda seleccionada, generalmente 230 nm, 210 nm o 254 nm. Se registraron espectros de masas en un espectrómetro de masas usando una ionización por electronebulización en modo positivo y negativo de exploración alterna.

Ejemplos preparativos**20 Intermedio 1****6-Cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol**

Procedimiento A

Se disolvió 6-cloro-4-yodo-1H-indazol (30 g, 108 mmol, disponible de Sinova) en *N,N*-dimetilformamida (300 ml) y se enfrió en un baño de agua enfriada con hielo en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió en porciones hidruro de sodio (5,17 g, 129 mmol), manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 20 min y después se añadió gota a gota cloruro de bencenosulfonilo (16,5 ml, 129 mmol) durante 15 min. La reacción se dejó calentar a TA durante una noche y después se vertió en agua enfriada con hielo (2 l). El producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (aprox. 400 ml) y se secó en un horno de vacío durante una noche para dar el compuesto del título (43,3 g).

CLEM (Procedimiento A): Tr 1,38 min, MH⁺ 419.

10 Procedimiento B

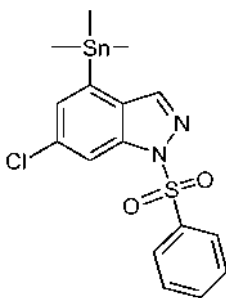
A una solución agitada de 6-cloro-4-yodo-1H-indazol (633,6 g) en THF (5,7 l) se le añadió hidróxido sódico (227,4 g), seguido de bisulfato de tetra-*n*-butilamonio (38,0 g) a 20±3 °C, en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 20±3 °C durante 1 h 3 min, después se añadió cloruro de bencenosulfonilo (319 ml) a una velocidad tal para mantener la temperatura interna a <25 °C. El cloruro de bencenosulfonilo residual se aclaró en el recipiente con THF (630 ml), después la mezcla se agitó durante 1 h 10 min. La mezcla se enfrió a <5 °C y se añadió agua (12,7 l) a una velocidad tal para mantener la temperatura interna por debajo de 5±3 °C, después la mezcla se agitó a 0-5 °C durante 1 h 20 min. Los sólidos se recogieron por filtración al vacío, se lavaron con agua (2 x 1,9 l), se absorbieron en seco, después se secaron adicionalmente al vacío con un flujo de nitrógeno a 40 °C±3 °C durante una noche para dar el compuesto del título (780,8 g).

20 CLEM (Procedimiento C): Tr 6,28 min, MH⁺ 419.

Procedimiento C

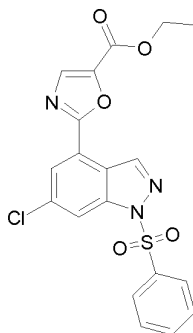
Todos los pesos, volúmenes y equivalentes son relativos a 6-cloro-4-yodo-1H-indazol.

Se agitaron 6-cloro-4-yodo-1H-indazol (1,0 equiv., 1 p., 50 g), hidróxido sódico (2,25 equiv., 0,324 p., 16,16 g) e hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (0,05 equiv., 0,061 p., 3,05 g) en THF (9,5 vol., 475 ml) a 20±3 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 1 h. La mezcla se enfrió a 15±3 °C y se añadió gota a gota cloruro de bencenosulfonilo (1,10 equiv., 0,51 vol., 25,5 ml) durante 20 min manteniendo la temperatura de reacción a <25 °C y se lavó con THF (0,5 vol., 25 ml). Después, la mezcla resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a 20±3 °C durante al menos 1 h antes de comprobar su finalización por HPLC. Después, la mezcla de reacción se añadió a una solución 0,25 M de ácido clorhídrico (18 vol., 900 ml), se enfrió a 0±3 °C durante 15 minutos manteniendo la temperatura de la suspensión acuosa a <20 °C. Esta se lavó con una solución 0,25 M de ácido clorhídrico (2 vol., 100 ml). Después, la suspensión de color naranja resultante se agitó a 2±3 °C durante al menos 1 h. El sólido se filtró, se lavó con agua (2 x 3 vol., 2 x 150 ml) y se absorbió en seco durante 20 min, después se secó a alto vacío a 40 °C (±3 °C) a una temperatura de sonda constante para proporcionar 6-cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol en forma de un sólido de color naranja.

Intermedio 235 **6-Cloro-1-(fenilsulfonil)-4-(trimetilestanil)-1H-indazol**

Se calentaron 6-cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol (30 g, 71,7 mmol), tetraakis(trifenilfosfina)paladio (0) (8,1 g, 7,01 mmol), xileno (200 ml), trietilamina (19,98 ml, 143 mmol) y hexametildiestaño (21,8 ml, 105 mmol) a 150 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró en caliente a través de Celite, lavando con más cantidad de xileno, y el disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trituró con ciclohexano y el precipitado recogió por filtración y se secó en un horno de vacío para dar el compuesto del título (14,4 g).

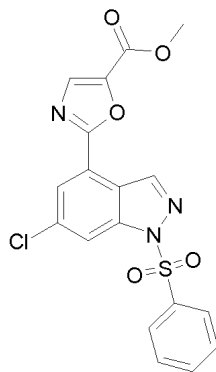
40 CLEM (Procedimiento A): Tr 1,51 min, MH⁺ 457.

Intermedio 3a**2-[6-Cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo**

5 En 4 lotes, se añadieron tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (3,37 g, 2,92 mmol), 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (6,65 g, 37,9 mmol, disponible de Apollo Scientific) y yoduro de cobre (I) (1,11 g, 5,83 mmol) a una solución de 6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-4-(trimetilestananil)-1H-indazol (13,28 g, 29,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (52 ml). En 3 de los lotes, se añadieron tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (1,03 g, 0,89 mmol), 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (2,03 g, 11,59 mmol) y yoduro de cobre (I) (0,34 g, 1,78 mmol) a una solución de 6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-4-(trimetilestananil)-1H-indazol (4,06 g, 8,91 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (16 ml). En el

10 cuarto lote, se añadieron tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,28 g, 0,24 mmol), 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (0,55 g, 3,14 mmol) y yoduro de cobre (I) (0,09 g, 0,48 mmol) a una solución de 6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-4-(trimetilestananil)-1H-indazol (1,10 g, 2,42 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (4 ml). Cada lote se calentó y se agitó a 100 °C en irradiación de microondas durante 30 min. Las mezclas se dejaron enfriar a TA y el producto precipitado combinado se suspendió en éter dietílico y se recogió por filtración, lacando con más cantidad de éter, después secando en un horno de vacío durante 72 h. Aproximadamente 5,2 g del sólido resultante se disolvieron diclorometano y se pasaron a través de Celite, eluyendo con más cantidad de diclorometano. El disolvente se evaporó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja pálido (4,95 g).

15 CLEM (Procedimiento A): Tr 1,38 min, MH⁺ 432.

Intermedio 3b**2-[6-Cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de metilo**

25 A una solución agitada de 6-cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (549,8 g) en tolueno (1,43 l) se le añadió trietilamina (380 ml) a 20±3 °C en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió hexametildiestañio (385 ml) en tolueno (825 ml), seguido de tolueno (275 ml), y después tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (154,7 g). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C y se agitó esta temperatura durante 3 h. La mezcla se dejó enfriar a 20±3 °C, se filtró, después se lavó con tolueno (4,95 l). El filtrado se transfirió a un recipiente limpio a través de un filtro en línea de 5 µm Dornick hunter, aclarando con más cantidad tolueno (550 ml). Después, el lote se lavó con una solución acuosa al 50 % de KF (5,5 l), la suspensión acuosa se filtró y el filtrado se combinó de nuevo con la fase orgánica. El extracto acuoso se separó y los extractos orgánicos se lavaron sucesivamente con KF acuoso al 50 % (5,5 l), seguido de agua (5,5 l). La

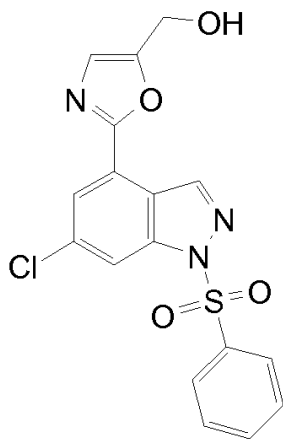
30 fase orgánica se diluyó con DMPU (2,75 l), después se concentró mediante destilación al vacío a aprox. 5,4 vols. A la solución resultante se le añadió yoduro de cobre (I) (25,5 g), seguido de 2-cloro-1,3-oxazol-5-carboxilato de metilo (279 g, disponible de Apollo Scientific) a 20±3 °C. La solución se desgasificó mediante purgas de vacío y nitrógeno (x 3). Se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (78 g), la mezcla se desgasificó (x 3) y después se calentó a 85-90 °C durante 10 h. La mezcla se diluyó con DMSO (13,75 l) y se enfrió a 20±3 °C, después se añadió agua (2,75 l) en

35 porciones de aprox. 1 vol. durante aprox. 15 min hasta que se inició la cristalización. La suspensión resultante se maduró a 20 °C±3 °C durante 1,5 h. Los sólidos se recogieron por filtración al vacío, se lavaron con agua (2 x 2,75 l), se absorbieron en seco y después se secaron adicionalmente al vacío con un flujo de nitrógeno a 45 °C±5 °C durante

una noche para dar el compuesto del título (341,1 g).
CLEM (Procedimiento C): Tr 6,08 min, MH⁺ 418.

Intermedio 4

{2-[6-Cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol



5

Procedimiento A

Una solución de 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (5,11 g, 11,8 mmol) en diclorometano (80 ml) se enfrió a -25 °C en un matraz de fondo redondo secado al horno. Se añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio (25 ml, 37,5 mmol, solución 1,5 M en tolueno) y la reacción se agitó a -20 °C durante 3 h. Se añadió una solución acuosa al 10 % de tartrato de sodio y potasio (80 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 min. El sólido precipitado se retiró por filtración y se repartió entre acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml). Las fases se separaron y el extracto acuoso se lavó con más cantidad de acetato de etilo (3 x 150 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,1 g).
CLEM (Procedimiento A): Tr 1,09 min, MH⁺ 390.

El filtrado restante se concentró ampliamente al vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más cantidad de acetato de etilo (3 x 150 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 150 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,9 g).
CLEM (Procedimiento A): Tr 1,09 min, MH⁺ 390.

Procedimiento B

A una solución de 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (1,15 g) en THF (17,25 ml), agitada en una atmósfera de nitrógeno en un baño de hielo, se le añadió una solución de hidruro de diisobutilaluminio (5,08 ml, 5,64 mmol) en tolueno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Se añadió decahidrato de sulfato de sodio (2,5 g), la mezcla se agitó a TA durante 1 h, después se filtró, se lavó con THF (2 x 5 vol.) y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (0,98 g).
CLEM (Procedimiento D): Tr 2,20 min, MH⁺ 390.

Procedimiento C

A una solución de 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (604,5 g) en THF (8,7 l), agitada en una atmósfera de nitrógeno a 0±3 °C se le añadió una solución de hidruro de diisobutilaluminio aproximadamente 1,3 M (1,8 kg) en tolueno. La mezcla de reacción se agitó a 0±3 °C durante 30 min y después se diluyó con THF (3 l). Se añadió decahidrato de sulfato sódico (1,3 kg), manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. La mezcla se agitó a 0±3 °C durante 10 min y después se calentó a 20±3 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 h. La suspensión se filtró, se lavó con THF (4 x 3 l) y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (529,6 g).
CLEM (Procedimiento C): Tr 5,18 min, MH⁺ 390.

Procedimiento D

Todos los pesos, volúmenes y equivalente son relativos a 6-cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol.

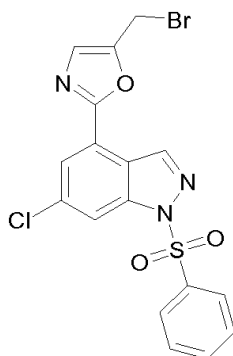
Se enfrió cloruro de cinc (3,6 equiv., 1,17 p., 52,7 g) en tetrahidrofurano (5 vol., 225 ml) a de 0 a 5 °C. En el recipiente se añadió una solución del oxazol-5-carboxilato de etilo (1,1 equiv., 0,37 p., 18,1 g, corregida para ensayo al 92 %p.)

40

en tetrahidrofurano (5 vol., 225 ml). La suspensión se enfrió a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) en una atmósfera de nitrógeno y se añadió una solución 1 M de bis-(trimetilsilil)-litoamida en tetrahidrofurano (1,80 equiv., 4,30 vol., 193 ml) durante 15 minutos manteniendo la temperatura a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). La solución resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 1 hora. A la solución se le añadió 6-cloro-4-yodo-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (1,0 equiv., 1,0 p., 45,0 g) y tetraquis trifenilfosfina paladio (0,03 equiv., 0,083 p., 3,73 g) (la mezcla se desgasificó 3 veces con vacío/nitrógeno) y después se calentó a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante al menos 6 horas. Después, se comprobó la finalización de la reacción por HPLC. La solución de reacción se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se añadió una solución de hidruro de diisobutilaluminio al 25 % p/p en tolueno (4,0 equiv., 6,4 vol., 288 ml), manteniendo la temperatura a $<5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después, la solución de reacción resultante se agitó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante al menos 1 hora. Después, se comprobó la finalización de la reacción por HPLC (genérica). La mezcla de reacción se añadió en porciones a una solución de ácido cítrico (4,0 equiv., 2,0 p., 90 g) en agua (10 vol., 450 ml) a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante ~ 1 h. La solución resultante se agitó a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos, se extrajo con acetato de etilo (10 vol., 450 ml), la fase orgánica se lavó con agua (2 x 3 vol., 2 x 135 ml) y se filtró a través de un sinterizador de porosidad 4. Después, la fase orgánica se evaporó a presión reducida ($45\text{ }^{\circ}\text{C}$, 100 mbar) a de 2 a 3 volúmenes, se añadió dimetilsulfóxido (10 vol., 450 ml) y la solución se evaporó a presión reducida ($45\text{ }^{\circ}\text{C}$, 50 mbar) para retirar todas las trazas de otros disolventes. A la solución a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le añadió gota a gota agua (5 vol., 225 ml) durante 30 minutos, la mezcla de reacción resultante se enfrió a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 h y se agitó a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante al menos 15 h. El producto se filtró, se lavó con una solución de dimetilsulfóxido:agua (1:2) (2 vol., 90 ml), después se lavó con agua (3 vol., 135 ml), después se secó a alto vacío a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) a una temperatura de sonda constante para proporcionar (2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metanol en forma de un sólido de color beige.

Intermedio 5

4-[5-(Bromometil)-1,3-oxazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol



Procedimiento A

Se disolvió {2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol (1,626 g, 4,17 mmol) en diclorometano anhidro (20 ml) y se añadió tetrabromuro de carbono (2,77 g, 8,34 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se añadió gota a gota una solución de trifenilfosfina (2,188 g, 8,34 mmol) en diclorometano (20 ml). Después de dejar calentar a TA y de agitar durante 3 h más, el disolvente se retiró parcialmente al vacío y la solución se purificó directamente por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo al 0-100 % en diclorometano. Las fracciones apropiadas se combinaron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color crema (1,16 g). CLEM (Procedimiento B): Tr 3,70 min, MH^+ 454.

Procedimiento B

Se añadió dibromuro de trifenilfosfina (20,60 g, 48,8 mmol) a una suspensión de {2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol (9,06 g, 23,2 mmol) en diclorometano (181 ml) a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción se agitó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se completó. Se añadieron agua (91 ml) y una solución saturada de bicarbonato sódico (91 ml) y la mezcla se agitó, y después se separó. La fase acuosa se extrajo con más cantidad de diclorometano (45 ml) y los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua (91 ml). Las fases se separaron y la orgánica se concentró a sequedad y se redisolvió después en metanol (136 ml). Después de agitar durante 30 min, la suspensión de color blanco resultante se filtró y el sólido se secó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (9,58 g). CLEM (Procedimiento D): Tr 2,57 min, MH^+ 452/454.

Procedimiento C

Se añadió dibromuro de trifenilfosfina (1,2 kg) a una suspensión de {2-[6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol (544,7 g) en diclorometano (3,8 l) agitada en una atmósfera de nitrógeno a $10\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción se agitó a $10\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 min. Se añadieron agua (2,7 l) y una solución saturada de bicarbonato sódico (5,4 l) y la mezcla se agitó y después se separó. La fase acuosa se extrajo con más diclorometano (2,7 l) y los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua (2,7 l). Las fases se separaron y la orgánica se concentró a sequedad y después se redisolvió en metanol (6,5 l). Después de agitar durante 5 horas, la suspensión de

color blanco resultante se filtró, se lavó con metanol (2 x 1,1 l) y el sólido se secó al vacío a 40±5 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (514,0 g). CLEM (Procedimiento C): Tr 6,40 min, MH⁺ 453/455.

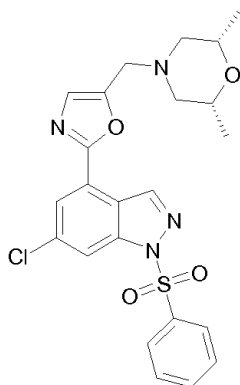
Procedimiento D

- 5 Todos los pesos, volúmenes y equivalentes son relativos a (2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metanol.

Se agitaron (2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metanol (1,0 equiv., 1 p., 34,0 g) y dibromuro de trifetilfosfina (1,3 equiv., 1,32 p., 45,0 g) en diclorometano (15 vol., 510 ml) a 20 (±3 °C) en una atmósfera de nitrógeno durante 1 h. Después, se comprobó la finalización de la reacción por HPLC. Una vez completa, se añadió metanol (0,8 vol., 27,2 ml) a la reacción, con agitación vigorosa se añadió gota a gota una solución al 8 %p/p de hidrogenocarbonato sódico (10 vol., 340 ml) durante 15 minutos (se comprobó que pH acuoso >7). La mezcla se calentó a 30 °C (±3 °C) y se agitó junta durante 10 minutos, después se separó, el material acuoso se extrajo de nuevo con diclorometano (5 vol., 170 ml) y las fases de diclorometano combinadas se lavaron con agua (5 vol., 170 ml). Después, la solución de diclorometano se evaporó a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 4 vol. A la solución se le añadió metanol (15 vol., 510 ml) y la solución se evaporó a presión reducida a 260 mbar, 20 °C, para retirar el diclorometano resultante hasta ~15 vol.. Después, la suspensión se agitó a 20 °C durante al menos 6 h. El sólido se filtró, se lavó con metanol (2 x 1 vol., 2 x 34 ml), se absorbió en seco durante 20 minutos, después se secó a alto vacío a 30 °C (±3 °C) a una temperatura de sonda constante para proporcionar 5-(bromometil)-2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol en forma de un sólido de color beige.

20 Intermedio 6a

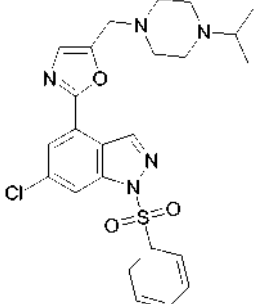
6-Cloro-4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol



Se disolvió 4-[5-(bromometil)-1,3-oxazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (0,580 g, 1,28 mmol) en diclorometano (5 ml) y se añadió (2R, 6S)-2,6-dimetilmorfolina (0,317 ml, 2,56 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h, después el disolvente se retiró bajo una corriente de nitrógeno. El sólido de color amarillo resultante se disolvió en diclorometano (5 ml) y se lavó con agua (2 x 2,5 ml). Las fases se separaron (frita hidrófoba) y el material orgánico se evaporó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (0,60 g). CLEM (Procedimiento A): Tr 0,86 min, MH⁺ 487.

30 RMN ¹H (400 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 8,93 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 8,33 (dd, J = 1,0, 1,5 Hz, 1H), 8,04 - 8,00 (m, 2H), 7,98 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,62 (tt, J = 1,5, 7,5 Hz, 1H), 7,51 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,15 (s, 1H), 3,67 (s, 2H), 3,75 - 3,66 (m, 2H), 2,79 - 2,72 (m, 2H), 1,86 (dd, J = 10,5, 11,0 Hz, 2H), 1,16 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

Se preparó de forma análoga usando la amina adecuada:

Número de intermedio	Nombre	Estructura	Amina	T _r CL/EM min	CL/EM MH ⁺
6b	6-cloro-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol		1-(1-metiletil)piperazina	0,77	500

Intermedio 6a

Procedimiento B

- 5 Se añadieron (2R,6S)-2,6-dimetilmorfolina (160 ml) y después trietilamina (180 ml) a una suspensión de 4-[5-(bromometil)-1,3-oxazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (478,1 g) en acetona (3,8 l) agitada en una atmósfera de nitrógeno a menos de 25 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20-25 °C durante 2,5 horas y después se añadió agua (3,8 l).
- 10 La suspensión resultante se agitó a 25 °C durante 35 min y después se filtró, se lavó con una mezcla de 2:1 v/v de agua:acetona (2 x 1,0 l) y el sólido se secó al vacío a 45±5 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (500,5 g).
CLEM (Procedimiento B): Tr 3,43 min, MH⁺ 487.

Procedimiento C

- 15 Todos los pesos, volúmenes y equivalentes son relativos a 5-(bromometil)-2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol (corregido para el ensayo).

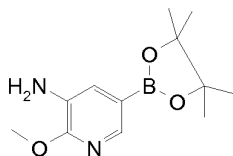
- 20 A una suspensión de 5-(bromometil)-2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol (1 p., 540 g) en acetona (8,7 vol, 4,7 l) se le añadió 2,6-dimetilmorfolina (0,33 vol, 1,2 equiv., 178 ml), seguido de trietilamina (0,37 vol, 1,2 equiv., 200 ml) a <25 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 20-25 °C durante al menos 0,5 h, después se supervisó su finalización por HPLC. Después se añadió agua (8,7 vol, 4,7 l) a la mezcla durante aprox. 5 minutos. La suspensión resultante se maduró a <25 °C durante al menos 0,5 h, después los sólidos se recogieron por filtración al vacío, se lavaron con agua/acetona (2:1 v/v, 2 x 2,2 vol, 2 x 1,2 l) y se secaron al vacío con un flujo de nitrógeno a 45±5 °C.

- 25 Recristalización - Todos los pesos, volúmenes y equivalentes son relativos a ((2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metil)-*cis*-2,6-dimetilmorfolina. Una suspensión agitada de ((2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metil)-*cis*-2,6-dimetilmorfolina (1 p., 30 g) en DMSO (9 vol, 270 ml) se calentó a 75-80 °C en una atmósfera de nitrógeno. La solución transparente resultante se transfirió a un recipiente de cristalización mediante un filtro en línea Domnick hunter de 5 µm, después la línea se lavó con más cantidad de DMSO (1,0 vol, 30 ml). La solución caliente se dejó enfriar a 20-25 °C durante al menos 2 h, después la suspensión resultante se maduró a esta temperatura durante al menos 1 h. Los sólidos resultantes se filtraron, se lavaron con DMSO (1,5 vol, 45 ml), seguido de agua/acetona (2:1 v/v, 2 x 2 vol, 2 x 60 ml) antes de absorberse en seco durante 0,5 h. El lote se secó al vacío a 45 °C a una temperatura de sonda constante para proporcionar ((2-(6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-4-il)oxazol-5-il)metil)-*cis*-2,6-dimetilmorfolina en forma de un sólido de color blanquecino.

Intermedio 6b

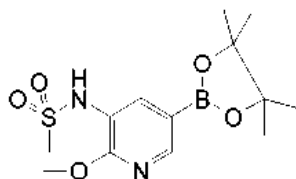
Procedimiento B

- 35 Se añadió isopropilpiperazina (165 ml) a una suspensión de 4-[5-(bromometil)-1,3-oxazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (250,1 g) en diclorometano (2,5 l) agitada en una atmósfera de nitrógeno a 22±3 °C. La mezcla de reacción se agitó a 22±3 °C durante 1,25 horas y después se añadió agua (2,5 l), la mezcla se agitó y después se separó. La fase acuosa se extrajo con más diclorometano (0,5 l) y los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua (2,5 l). Las fases se separaron y la orgánica se concentró a sequedad, al vacío, para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (274,6 g).
CLEM (Procedimiento B): Tr 3,33 min, MH⁺ 500.

Intermedio 7**2-(Metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinamina**

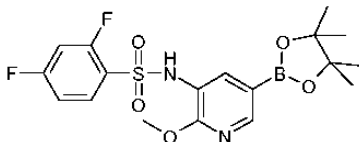
5 A 5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinamina (18,93 g, 93 mmol, disponible de Asymchem International) en un matraz de fondo redondo de 1 l se le añadió 1,4-dioxano purgado con nitrógeno (500 ml), seguido de 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolano (47,4 g, 186 mmol), acetato potásico (27,5 g, 280 mmol) y aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (7,61 g, 9,32 mmol). Después, la mezcla se agitó a 80 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 2 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar, después se repartió entre acetato de etilo y agua, y se filtró a través de una capa de Celite. La fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, y se secaron sobre sulfato de magnesio durante una noche. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío para dar un sólido de color pardo oscuro. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo en acetato de etilo al 0-50 %/diclorometano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron a sequedad, y el residuo se trituró con ciclohexano. El sólido resultante se retiró por filtración y se secó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color rosa claro (11,1 g).

15 CLEM (Procedimiento A), Tr 0,91 min, MH⁺ 251.

Intermedio 8**N-[2-(Metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]metanosulfonamida**

20 A una solución de 2-(metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinamina (0,5 g, 1,999 mmol) en piridina (5 ml) se le añadió cloruro de metanosulfonilo (0,309 ml, 4,00 mmol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 18 h, después el disolvente se retiró al vacío. El residuo se repartió entre una solución saturada de bicarbonato sódico (10 ml) y diclorometano (20 ml), se separó mediante una frita hidrófoba y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de diclorometano y metanol para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo (0,46 g).

25 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,98 min, MH⁺ 329.

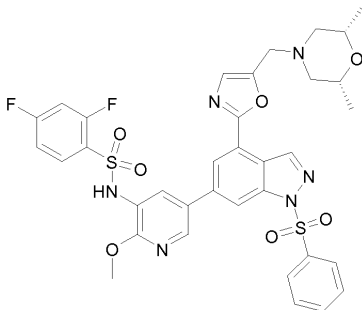
Intermedio 9**2,4-Difluoro-N-[2-(metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]bencenosulfonamida**

30 A una solución agitada de 2-(metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinamina (3 g, 12,00 mmol) en piridina (12 ml), se le añadió cloruro de 2,4-difluorobencenosulfonilo (1,774 ml, 13,19 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. Se añadieron cloruro de hidrógeno (ac.) 2 N (20 ml) y diclorometano (20 ml) y las fases se separaron. La fase acuosa se lavó con más cantidad de diclorometano (2 x 15 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron (frita hidrófoba) y se evaporaron al vacío para dar un aceite de color pardo. Aún había algo de piridina en la mezcla de reacción, así que se añadieron cloruro de hidrógeno (ac.) 2 M y diclorometano (15 ml) al extracto una vez más. El disolvente se retiró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (4,3 g).

35 CLEM (Procedimiento A): Tr 1,20 min, MH⁺ 427 [NB. también se observó Tr 0,73 min, MH⁺ 345 coherente con ácido borónico (producto de hidrólisis debido al eluyente de HPLC)].

Intermedio 10

***N*-[5-[4-(5-[[2*R*,6*S*]-2,6-Dimetil-4-morfolmil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1*H*-mdazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida**



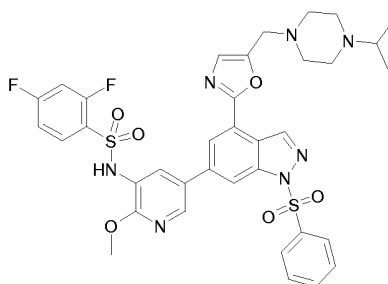
5 A una solución de 6-cloro-4-(5-[[2*R*,6*S*]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)- 1*H*-indazol (0,2 g, 0,411 mmol) y 2,4-difluoro-*N*-[2-(metoxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]bencenosulfonamida (0,228 mg, 0,534 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le añadieron cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmol), fosfato potásico tribásico (0,262 g, 1,23 mmol) y agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C con agitación durante 3 h en irradiación de microondas, después se filtró a través de un SPE de sílice, eluyendo con metanol. El disolvente se retiró y el residuo se repartió entre diclorometano (5 ml) y agua (5 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más diclorometano (2 x 2,5 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron en una corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en DMSO y unas gotas de diclorometano (3 ml), y se purificó por MDAP (procedimiento H) en 3 inyecciones. Las fracciones apropiadas se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo pálido (0,105 g).

10

15 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,93 min, MH⁺751.

Intermedio 11

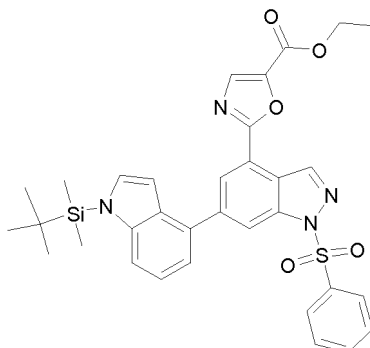
***N*-[5-[4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1*H*-mdazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida**



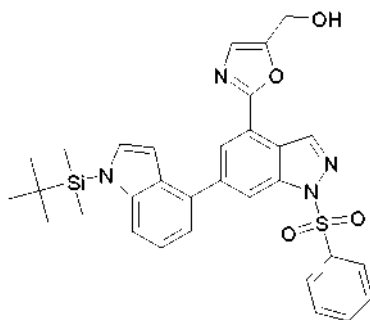
20 A una solución de 6-cloro-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1*H*-indazol (0,2 g, 0,40 mmol) y 2,4-difluoro-*N*-[2-(metoxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]bencenosulfonamida (0,222 g, 0,52 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le añadieron cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (11,2 g, 0,020 mmol), fosfato potásico tribásico (0,255 g, 1,20 mmol) y agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C con agitación durante 3 h en irradiación de microondas y después se filtró a través de un SPE de sílice, eluyendo con metanol. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se repartió entre diclorometano (5 ml) y agua (5 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más diclorometano (2 x 2 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron en una corriente de nitrógeno y el residuo se purificó usando cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con metanol al 0-25 % en diclorometano. Las fracciones apropiadas se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo (0,081 g).

25

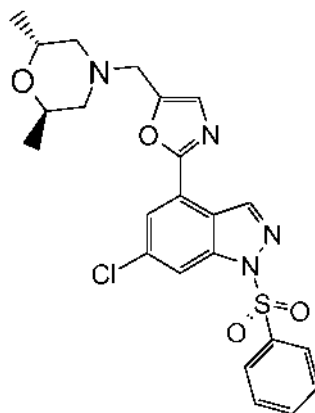
30 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,85 min, MH⁺764.

Intermedio 12**2-[6-{1-[(1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo**

- 5 A una solución de 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (1,5 g, 3,47 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) y agua (1,5 ml) se le añadieron ácido {1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}borónico (1,243 g, 4,52 mmol, disponible de Combi-Blocks Inc.), cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (0,097 g, 0,174 mmol) y fosfato potásico tribásico (2,212 g, 10,42 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 3 h, el disolvente se retiró al vacío
- 10 y el residuo se repartió entre diclorometano (20 ml) y agua (10 ml). Se añadió una solución saturada de cloruro sódico (100 ml) y la fase orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico anhidro. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de ciclohexano y acetato de etilo. Las fracciones deseadas se concentraron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (0,846 g), que según CLEM contenía un poco de material de partida sin reaccionar.
- 15 CLEM (Procedimiento A): Tr 1,71 min, MH⁺627 (y Tr 1,39 min, MH⁺ 432 coherente con 2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo).

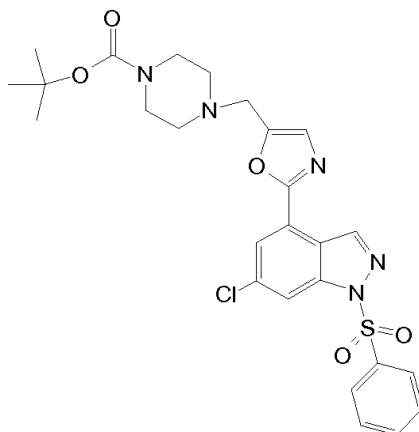
Intermedio 13**{2-[6-{1-[(1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol**

- 20 A una solución de 2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo (que contenía una impureza coherente con 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-carboxilato de etilo) (0,84 g) en diclorometano (10 ml) a -20 °C se le añadió hidruro de diisobutilaluminio (2,68 ml, 2,68 mmol, 1 M en hexanos). La mezcla de reacción se agitó a -20 °C durante 2 h y después se añadió una solución al 10 % de cloruro de amonio (10 ml). La mezcla se agitó durante 5 min, después se extrajo con diclorometano (10 ml), las fases se separaron (frita hidrófoba) y la fase orgánica se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de ciclohexano y acetato de etilo. Las fracciones deseadas se concentraron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (0,36 g), que según CLEM contenía una impureza coherente con 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol.
- 25 CLEM (Procedimiento A): Tr 1,55 min, MH⁺ 585 (y Tr 1,11 min, MH⁺ 390 coherente con impureza de {2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol).
- 30

Intermedio 14**6-Cloro-4-(5-[[2R,6R)-2,6-dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol**

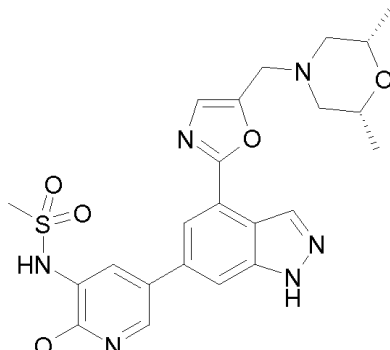
5 A una solución de 4-[5-(bromometil)-1,3-oxazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol (750 mg, 1,657 mmol) en diclorometano (50 ml) agitada al aire a temp. ambiente, se le añadió 2,6-dimetilmorfolina pura (191 mg, 1,657 mmol, disponible de Aldrich como una mezcla de isómeros). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 20 h. Los volátiles se retiraron usando un evaporador rotatorio, después el material en bruto se pre-absorbió sobre Fluorosil™ y se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (100 g) usando un gradiente de acetato de etilo al 0-100 %-ciclohexano durante 60 min. Se aislaron dos diaestereoisómeros. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (226 mg).

10 La RMN ¹H confirmó la estructura como el isómero trans. RMN ¹H (400 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 8,92 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 8,32 (dd, J = 1,0, 1,5 Hz, 1H), 8,04 - 8,00 (m, 2H), 7,97 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,62 (tt, J = 1,5, 7,5 Hz, 1H), 7,54 - 7,48 (m, 2H), 7,13 (s, 1H), 4,08 - 3,99 (m, J = 3,5, 6,0, 6,5, 6,5, 6,5 Hz, 2H), 3,66 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 3,61 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 2,56 (dd, J = 3,0, 10,5 Hz, 2H), 2,23 (dd, J = 6,0, 10,5 Hz, 2H), 1,24 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

15 Intermedio 15**4-({2-[6-Cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metil)-1-piperazincarboxilato de 1,1-dimetiletilo**

20 Se disolvió 1-piperazincarboxilato de 1,1-dimetiletilo (185 mg, 0,994 mmol) en 1 ml de DCM y se añadió gota a gota trietilamina (0,185 ml, 1,325 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h, después se concentró al vacío para proporcionar un sólido de color amarillo. Este se disolvió en agua/DCM (1:1, 50 ml) y la fase orgánica se recogió y después se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de una goma de color amarillo (347 mg). CLEM (Procedimiento A), Tr 1,16 min (ionización pobre, observado (M+MeCN)⁺ 599).

Ejemplo 1

***N*-[5-[4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida**5 Procedimiento A

A una solución de 6-cloro-4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfo- nil)-1H-indazol (0,20 g, 0,411 mmol) y *N*-[2-(metoxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,175 g, 0,534 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le añadieron
 10 cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmol), fosfato potásico tribásico (0,262 g, 1,23 mmol) y agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó y se agitó a 120 °C en irradiación de microondas durante 1 h. Se añadieron más cantidades de cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmol) y fosfato potásico tribásico (80 mg) y la reacción se calentó a 120 °C en irradiación de microondas durante 1 h. Se añadió más cantidad de fosfato potásico tribásico (80 mg) y la reacción se calentó en las
 15 mismas condiciones durante 1 h más. La mezcla de reacción se filtró a través de un SPE de sílice y eluyendo con metanol. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se repartió entre diclorometano (5 ml) y agua (5 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más diclorometano (2 x 2 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron en una corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en MeOH:DMSO (3 ml, 1:1, v/v) y se purificó por MDAP (procedimiento H) en 3 inyecciones. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido de color blanco que se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) y se purificó adicionalmente por MDAP (procedimiento I). Las fracciones apropiadas se basificaron a pH 6 con una solución saturada de bicarbonato sódico y se extrajeron con acetato de etilo (2 x 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron y se evaporaron al vacío para dar un sólido de color blanco que se secó adicionalmente en una atmósfera de nitrógeno a 40 °C durante 3 h para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (26 mg).
 20 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,53 min, MH⁺ 513.

Procedimiento B

Se suspendieron *N*-[2-(metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]metanosulfonamida (101 g, 308 mmol), 6-cloro-4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfo)nil)-1H-indazol (83,3 g, 154 mmol) y bicarbonato sódico (38,8 g, 462 mmol) en 1,4-dioxano (1840 ml) y agua (460 ml) en una atmósfera de nitrógeno y se calentaron a 80 °C. Se añadió cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (8,63 g, 15,40 mmol) y la mezcla se agitó durante una noche a 80 °C.
 30

La mezcla de reacción se enfrió a 45 °C, se añadió hidróxido sódico ac. 2 M (770 ml, 1540 mmol) y la reacción se calentó a 45 °C durante 4 horas. La mezcla se enfrió a TA y se diluyó con agua (610 ml). Se añadió diclorometano (920 ml) y la mezcla se filtró dos veces a través de Celite (lavado con 200 ml de 2:1 de 1,4-dioxano/DCM cada vez). Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con 2:1 de 1,4-dioxano/DCM (500 ml). La fase acuosa se neutralizó con ácido clorhídrico a pH ~7 y se extrajo con 2:1 de 1,4-dioxano/DCM (1 l), después 1:1 de 1,4 dioxano/DCM (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera (500 ml), se filtraron a través de Celite (lavado con 200 ml de 2:1 de 1,4 dioxano/DCM) y se evaporaron para producir un sólido de color negro oscuro, que se purificó en 4 lotes:
 35

Lote 1: se disolvieron 28 g en 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco (100 ml) y se purificaron por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (14,78 g).
 40

Lote 2: se disolvieron 30 g en metanol y se mezclaron con Fluorisil. Después, el disolvente se retiró por evaporación y el sólido se purificó por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg, módulo de inyección de muestra sólida), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (9,44 g).
 45

Lote 3: se disolvieron 31 g en 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco (100 ml) y se purificaron por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (17 g).

5 Lote 4: se disolvieron 29 g en 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco (100 ml) y se purificaron por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (21 g).

10 Las fracciones mixtas de las 4 columnas se combinaron y se evaporaron para producir 19 g que se disolvieron en 200 ml de 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco (+4 ml adicionales de 0,88 de NH₃ para ayudar a la solubilidad), después se purificaron por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (6,1 g).

15 Todos los lotes puros se combinaron (68 g) y se recrystalizaron en etanol (1200 ml). La suspensión se calentó a reflujo y se formó una solución. Después, la solución resultante se enfrió a temperatura ambiente durante una noche. Después, el sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con moderación con etanol y se secó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (56 g). Este material se recrystalizó de nuevo en etanol (1100 ml). La suspensión se calentó a reflujo y se formó una solución. Después, la solución resultante se enfrió a temperatura ambiente durante una noche con agitación. El sólido resultante se recogió por filtración y se lavó moderadamente con etanol. El sólido se secó al vacío a 60 °C durante 5 h para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (45,51 g).
CLEM (Procedimiento A): Tr 0,61 min, MH⁺ 513.

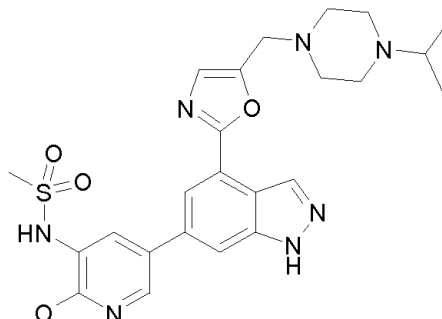
20 El filtrado de las dos recrystalizaciones se evaporó para producir ~23 g de un residuo sólido que se disolvió en 200 ml de 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco (+ 4 ml más de 0,88 NH₃ para ayudar a la solubilidad), después se purificó por cromatografía en columna (columna de sílice de 1,5 kg), eluyendo con 80:20:2 de tolueno/etanol/amoniaco para dar un cultivo adicional del compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (18,5 g). Después, este sólido se recrystalizó en etanol (370 ml). La suspensión se calentó a reflujo, después la solución resultante se agitó durante 20 min antes de que se permitiera enfriar a temperatura ambiente de forma natural durante una noche. Después, el sólido se secó al vacío a 65 °C durante una noche para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (11,90 g). CLEM (Procedimiento A): Tr 0,62 min, MH⁺ 513.

Procedimiento C

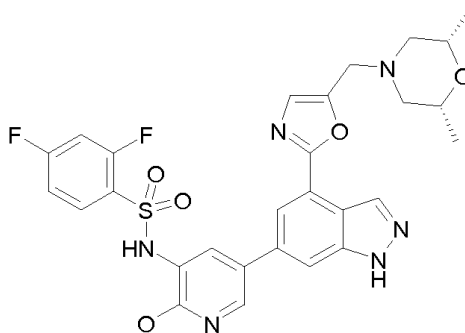
30 Se añadió una solución 10 M de hidróxido sódico (0,70 ml) a una suspensión agitada de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (1,17 g) en agua (5,8 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3,75 horas y después se lavó con acetato de etilo (2 x 6 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se acidificó a pH 6 con ácido clorhídrico 2 M (0,8 ml). La fase acuosa acidificada se extrajo dos veces con acetato de etilo (11 ml, después 5 ml). Los extractos de acetato de etilo combinados se secaron mediante destilación azeotrópica y se diluyeron con más cantidad de acetato de etilo (11 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 112 horas. La suspensión se sembró y después se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La suspensión resultante se filtró, se lavó con acetato de etilo (2 x 2 ml) y el sólido se secó al vacío a 40 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (0,58 g).
CLEM (Procedimiento B): Tr 1,86 min, MH⁺ 513.

40 Procedimiento D

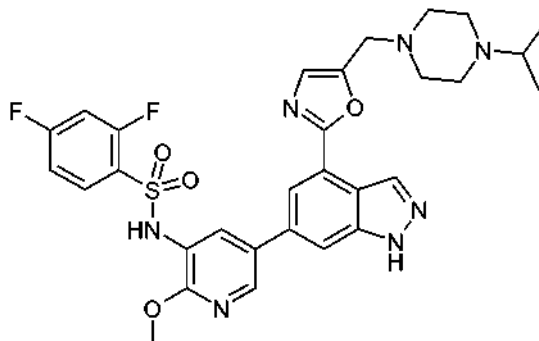
A una suspensión de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (596,5 g, 0,91 mol) en agua (3,8 l) se le añadió hidróxido sódico 5 M (715 ml, 3,56 mol) durante 20 min a <25 °C. La mezcla se agitó a 20±3 °C durante 2 h 45 min, después se lavó con EtCN (3 l). El pH de la fase acuosa básica se ajustó a pH 6,6 usando ácido clorhídrico 2 M (1,4 l), manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C. Después, la mezcla se extrajo con MeTHF (2 x 4,8 l) y los extractos de MeTHF combinados se lavaron con agua (1,2 l). La mezcla se concentró a aprox. 2,4 l y se añadió EtOAc (3 l). Esta destilación de puesta y recogida se repitió 3 veces más. La mezcla se ajustó a 60±3 °C y se sembró dos veces (2 x 3 g) 35 min por separado. El material resultante se maduró durante 1 h 10 min, después se enfrió durante 2 h a 20-25 °C, y se maduró durante 15 h 50 min más. La suspensión se filtró, se lavó con EtOAc (2 x 1,2 l) y se secó al vacío a 45±5 °C durante aprox. 3 días para dar el compuesto del título.

Ejemplo 2***N*-[5-[4-(5-{[4-(1-Metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-mdazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida**

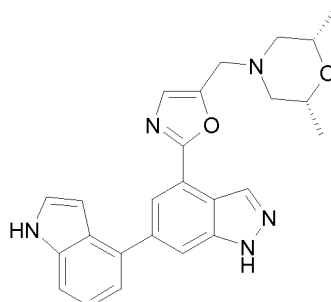
- 5 A una solución de 6-cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (200 mg, 0,400 mmol) y *N*-[2-(metoxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridil]metanosulfonamida (171 mg, 0,520 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le añadieron cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-1(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (11,2 mg, 0,020 mmol), fosfato potásico tribásico (255 mg, 1,20 mmol) y agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó y se agitó a 120 °C en irradiación de microondas durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un SPE de sílice y se luyó con metanol. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se repartió entre diclorometano (5 ml) y agua (5 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más diclorometano (2 x 2 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron en una corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en MeOH:DMSO (2 ml, 1:1, v/v) y se purificaron por MDAP (procedimiento H) en 2 inyecciones. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron, y el residuo se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) y se purificó adicionalmente por MDAP (procedimiento I). Las fracciones apropiadas se basificaron a pH 7 con una solución saturada de bicarbonato sódico y se extrajeron con diclorometano (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (frita hidrófoba) y se concentraron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (22 mg).
CLEM (Procedimiento A): Tr 0,51 min, MH⁺526.

Ejemplo 3***N*-[5-[4-(5-{[(2R,6S)-2,6-Dimetil-4-morfolmil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-mdazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida**

- 25 Se suspendió *N*-[5-[4-(5-{[(2H,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida (105 mg, 0,140 mmol) en isopropanol (2 ml) y se añadió hidróxido sódico 2 M (ac.) (0,699 ml, 1,399 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h, el disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en agua (1 ml) y se acidificó a pH~6 mediante la adición de cloruro de hidrógeno 2 M (ac.) (se formó un precipitado de color negro). La suspensión se extrajo con diclorometano (3 x 2 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron para dar un sólido de color pardo. Este se combinó con el precipitado de color negro que permaneció insoluble en la extracción, se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) y se purificó por MDAP (procedimiento H). Las fracciones apropiadas se concentraron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (20 mg).
CLEM (Procedimiento A): Tr 0,69 min, MH⁺611.

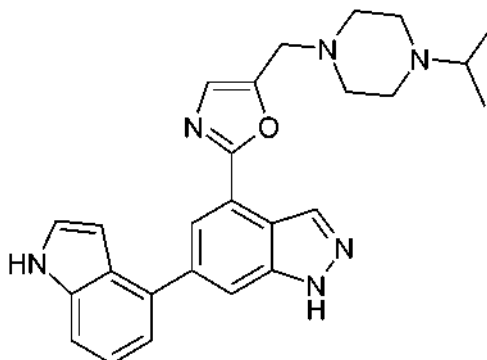
Ejemplo 4**2,4-Difluoro-N-[5-[4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida**

5 Se suspendió 2,4-difluoro-N-[5-[4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida (81 mg, 0,106 mmol) en isopropanol (2 ml) y se añadió hidróxido sodico 2 M (ac.) (0,53 ml, 1,060 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h, el disolvente se retiró y el residuo se disolvió en agua (1 ml) y se acidificó a pH ~6 mediante la adición de cloruro de hidrógeno 2 M (ac.). La suspensión resultante se extrajo con diclorometano (3x 2 ml), la fase orgánica se separó (frita hidrófoba) y se concentró al vacío para dar un sólido de color pardo que se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) y se purificó por MDAP (procedimiento H). Las fracciones apropiadas se concentraron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (45 mg). CLEM (Procedimiento A): Tr 0,65 min, MH⁺624.

Ejemplo 5**4-(5-[[2R,6S)-2,6-Dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol**

15 A una solución de 6-cloro-4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol (50 mg, 0,103 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml) y agua (0,15 ml) se le añadieron ácido {1-[1,1-dimetiletil](dimetil)silil]1-Hindol-4-il}borónico (37 mg, 0,133 mmol), cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (5,75 mg, 10,27 μmol) y fosfato potásico tribásico (65 mg, 0,308 mmol). La mezcla de reacción se calentó en irradiación de microondas a 100 °C durante 40 min. El disolvente se retiró y el residuo se disolvió en metanol al 10 % en diclorometano (2 ml) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de ciclohexano y acetato de etilo. Las fracciones apropiadas se concentraron para dar una goma de color pardo que se trató directamente con fluoruro de tetra-n-butilamonio (0,2 ml, 0,2 mmol, 1 M en tetrahidrofurano) y se dejó reposar a 20 °C durante 18 h. El disolvente se retiró y el residuo se disolvió en 1,4-dioxano (1 ml) y se trató con hidróxido sodico 2 M (1 ml) y se dejó reposar a 20 °C durante 48 h. El disolvente se retiró y el residuo se trituró con metanol al 10 % en diclorometano, después se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de diclorometano y metanol para dar un sólido de color pardo pálido que se purificó adicionalmente por SCX SPE (1 g), eluyendo con amoniaco 0,5 M en 1,4-dioxano. El disolvente se retiró y el residuo se purificó adicionalmente por MDAP para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (14 mg).

20
25
30 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,70 min, MH⁺428.

Ejemplo 6**6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol**Procedimiento A

- 5 Se disolvieron 6-cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (97 mg, 0,194 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (61,3 mg, 0,252 mmol, disponible de Frontier Scientific Europe), cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (10,87 mg, 0,019 mmol) y fosfato potásico tribásico (124 mg, 0,582 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml) y agua (0,1 ml) y se calentaron en un microondas Biotage Initiator a 100 °C durante 30 min. Se añadieron más cantidades de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (61,3 mg, 0,252 mmol) y cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (5 mg) y la reacción se calentó a 110 °C durante 30 min, después a 140 °C durante 30 min. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con metanol al 0-25 % en diclorometano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido de color pardo que se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) y se purificó por MDAP (procedimiento H). Las fracciones apropiadas se concentraron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (30 mg).
- 15 CLEM (Procedimiento A): Tr 0,57 min, MH⁺ 441.

Procedimiento B

- 20 Se suspendieron 6-cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonyl)-1H-indazol (75,17 g, 150 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (73,1 g, 301 mmol), bicarbonato sódico (37,9 g, 451 mmol) y cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (8,43 g, 15,03 mmol) en 1,4-dioxano purgado con nitrógeno (1200 ml) y agua (300 ml). El recipiente de reacción se puso al vacío y una atmósfera de nitrógeno alternativamente cinco veces con agitación superior y después finalmente se puso en una atmósfera de nitrógeno y se calentó a 120 °C durante 2,5 h.

- 30 La mezcla de reacción se enfrió a 45 °C y después se trató con hidróxido sódico acuoso 2 M (376 ml, 752 mmol). Después de agitar a 45 °C durante una noche (~13 h), la mezcla se enfrió a TA y se añadieron DCM (600 ml) y agua (400 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con DCM:1,4-dioxano (1:1). Se añadió salmuera y la mezcla se filtró a través de Celite, lavando con DCM:1,4-dioxano (1:1). Las fases se separaron y se añadió HCl 2 M (1000 ml) a la fase orgánica. La mezcla se filtró de nuevo a través de Celite, lavando con 500 ml de HCl 2 M, manteniendo los lavados por separado. Después, las fases del filtrado se separaron y la fase orgánica se lavó con los lavados de ácido del Celite. Las fases se separaron y la fase acuosa ácida se combinó. Después, esta se lavó de nuevo con 2 x 500 ml de DCM; requiriendo cada lavado una filtración con Celite. Después, a la fase acuosa ácida se le dio una filtración adicional a través de un lavado con Celite, el lecho de Celite con 150 ml de HCl 2 M.

- 35 La fase acuosa ácida se transfirió a un vaso de precipitados (5000 ml) y se añadió NaOH 2 M con agitación vigorosa para basificar la mezcla a pH 10-11. Después, la mezcla se extrajo usando 1,4-dioxano:DCM (1:1) (5 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron para producir una espuma de color pardo que se secó al vacío a 50 °C durante una noche.

- 40 Este material se dividió en tres lotes y cada uno se purificó por cromatografía en columna de fase inversa (3 x 1,9 kg, columna C18), cargando en DMF/TFA (1:1, 30 ml), después eluyendo con MeCN al 3-40 % en Agua + TFA al 0,25 % (Nota: Las columnas 2 y 3 usaran un gradiente diferente, partiendo de MeCN al 10 %).

- 45 Las fracciones apropiadas se combinaron, el acetotnitrilo se retiró al vacío y la fase acuosa ácida se basificó a pH 10 mediante la adición de una solución acuosa saturada de carbonato sódico a la solución agitada. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con agua, después se secó al vacío a 65 °C durante una noche para dar el compuesto del título (28,82 g) en forma de una espuma de color pardo pálido.
CLEM (Procedimiento A): Tr 0,68 min, MH⁺ 441.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,41 (s a, 1H), 11,35 (s a, 1H), 8,59 (s a, 1H), 8,07 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,90 (s a, 1H), 7,51 - 7,44 (m, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,27 - 7,21 (m, 2H), 6,61 - 6,58 (m, 1H), 3,73 (s a, 2H), 2,64 - 2,36 (m, 9H), 0,97 - 0,90 (m, 6H)

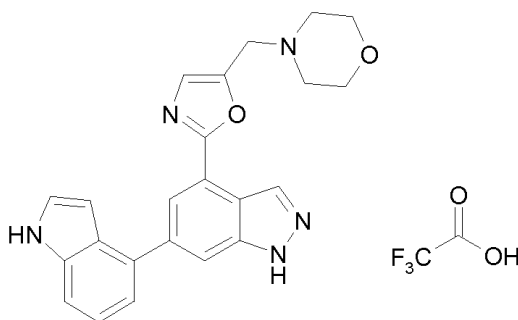
Procedimiento C

- 5 Se añadió hidróxido potásico (145,6 g) a una suspensión de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol (300,7 g) y bromuro de cetiltrimetilamonio (9,3 g) en tetrahidrofurano (6,0 l) y agua (30 ml), agitando en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a reflujo durante 17 horas y después se enfrió a 20-25 °C. Se añadieron acetato de etilo (3,0 l) y agua (3,0 l), se agitaron durante 10 minutos y después se separaron. La fase orgánica se extrajo con ácido clorhídrico (1 M, 1 x 3,0 l, 2 x 1,5 l) y los extractos ácidos se combinaron y se basificaron a ~pH 8 mediante la adición de una solución saturada de carbonato sódico (2,1 l). Después de madurar durante 30 minutos, la suspensión resultante se filtró, se lavó con agua (300 ml) y el sólido se secó al vacío a 65 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (127,9 g).

CLEM (Procedimiento B): Tr 2,44 min, MH⁺ 441.

15 Ejemplo 7

Trifluoroacetato de 6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol



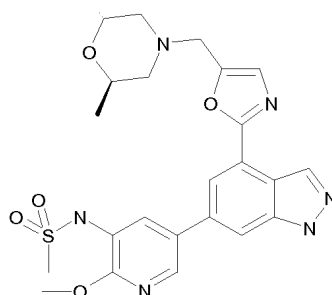
- 20 A una solución de {2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol (que contenía una impureza coherente con 2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metanol) (350 mg) en diclorometano (10 ml) se le añadió tetrabromuro de carbono (397 mg, 1,197 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota trifenilfosfina (314 mg, 1,197 mmol) en forma de una solución en diclorometano (2 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a TA, después el disolvente se retiró parcialmente y la solución se purificó directamente por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de diclorometano y acetato de etilo. Las fracciones deseadas se concentraron para dar un sólido de color pardo (37 mg).

- 25 A una solución del sólido (30 mg, 0,056 mmol) en diclorometano (5 ml) se le añadió morfolina (9,8 mg, 0,112 mmol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 18 h. El disolvente se retiró y el residuo se disolvió en 1,4-dioxano (2 ml) y se añadió una solución 2 M de hidróxido sódico (1 ml, 2,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 18 h, después el disolvente se retiró y el residuo se trituró con metanol al 10 % en diclorometano (1 ml) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de diclorometano y diclorometano + amoniaco al 1 % en metanol. Las fracciones deseadas se concentraron y se purificaron por MDAP para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo (3 mg).

CLEM (Procedimiento A): Tr 0,65 min, MH⁺ 400,

Ejemplo 8

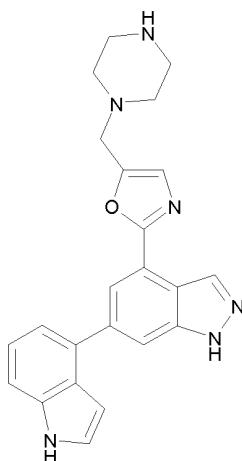
- 35 **N-[5-[4-(5-[[2R,6R]-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida**



5 A una solución de 6-cloro-4-(5-[(2R,6R)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol (109,5 mg, 0,225 mmol), N-[2-(metiloxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-piridinil]metanosulfonamida (148 mg, 0,450 mmol) y bicarbonato sódico (56,7 mg, 0,675 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) y agua (1,5 ml), agitada al
 10 a 120 °C durante 2 h. Después de este periodo, se añadió una solución de hidróxido sódico (2 N, 0,5 ml) y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante dos horas. Después de la refrigeración, la mezcla de reacción se pasó a través de un cartucho de celite (10 g) y se lavó con acetato de etilo. La solución resultante se evaporó y el residuo en bruto se purificó por MDAP (Procedimiento J). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (43 mg). CLEM (Procedimiento A), Tr 0,63 min, MH⁺ 513.

Ejemplo 9

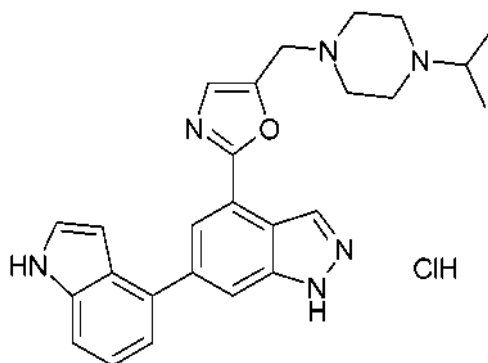
6-(1H-Indol-4-il)-4-[5-(1-piperazinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol



15 Se disolvieron 4-({2-[6-cloro-1-(fenilsulfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-oxazol-5-il}metil)-1-piperazinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (303 mg, 0,543 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (172 mg, 0,706 mmol, disponible de Frontier Scientific), cloro[2'-(dimetilamino)-2-bifenilil]paladio-(1R,4S)-biciclo[2,2,1]hept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2,2,1]hept-2-il]fosfano (1:1) (30 mg, 0,054 mmol, disponible de Fluka) y fosfato tripotásico (346 mg, 1,629 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y agua (2,5 ml). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y se calentó un microondas Biotage Initiator a 150 °C durante 30 min. Después se añadió NaOH acuoso 2 M (5 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas. Se añadió una porción adicional de NaOH acuoso 2 M (3 ml) y la agitación se continuó hasta que la desprotección pareció completa según análisis de CLEM. Después, se añadió DCM y la mezcla se pasó a través de un separador de fases. La fase orgánica se recogió. La fase acuosa se extrajo de nuevo con DCM, después las fases orgánicas se combinaron y se evaporaron para dar un aceite de color pardo. Este se disolvió en 5 ml de HCl 4 M en 1,4-dioxano y se dejó en agitación. La mezcla se concentró al vacío y el sólido resultante se repartió entre DCM y HCl acuoso 2 M. La fase acuosa se basificó con NaOH acuoso 2 M, después se lavó con DCM. La fase orgánica se concentró al vacío, después el residuo se disolvió en 2 ml de DMSO/MeOH (1:1) y se purificó por MDAP (Procedimiento H). La combinación de las fracciones adecuadas y la concentración mediante extracción en una atmósfera de nitrógeno a 40 °C, proporcionó el compuesto del título (43 mg). CLEM (Procedimiento A), Tr 0,62 min, MH⁺ 399.

30 Ejemplo 10

Clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

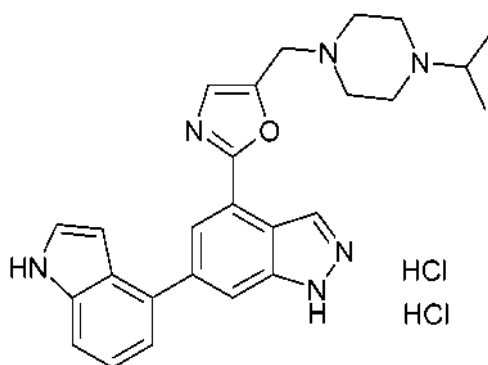


Una solución de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol en tetrahidrofurano (THF) (7,5 ml) se calentó a 60 °C en una atmósfera de nitrógeno. Se mezclaron ácido clorhídrico 2 M en éter dietílico (0,567 ml, 1,135 mmol) y tetrahidrofurano (THF) (0,5 ml) y se añadieron mediante un embudo de goteo. La solución se agitó a 60 °C durante 30 min antes de enfriarse lentamente TA. Después de agitar a TA durante 30 min más, el sólido se retiró por filtración, después se combinó de nuevo con los licores y se evaporó a sequedad. Se añadió THF (10 ml) y la suspensión se sometió a un ciclo de TR a reflujo 3 veces (parada a 30 min a temp. superior/inferior). La suspensión se agitó a TA durante una hora, después se filtró al vacío y el sólido resultante se secó en un horno de vacío a 50 °C durante una noche para dar el compuesto del título en forma de a un sólido de color blanquecino (322 mg).

CLEM (Procedimiento A): Tr 0,66 min, MH^+ 441. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 13,53 (s, 1H), 11,44 (s a, 1H), 10,20 (s a, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,52 - 7,46 (m, 2H), 7,41 (s, 1H), 7,28 - 7,19 (m, 2H), 6,60 (s a, 1H), 3,87 (s, 2H), 3,41 - 3,32 (m, 3 H+, oscurecido por H $_2$ O), 3,10 - 2,93 (m, 4H), 2,71 - 2,58 (m, 2H), 1,23 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

Ejemplo 11

Diclorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

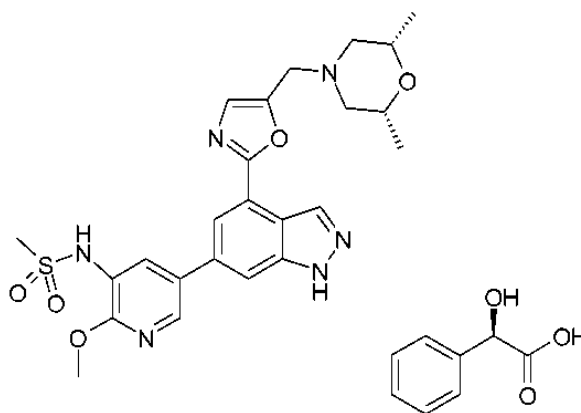


Se disolvió 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (19,4 mg, 0,044 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (0,5 ml) y se añadió HCl 4 M en dioxano (0,022 ml, 0,088 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 2 h, después el precipitado color crema formado se retiró por filtración y se secó en un horno de vacío durante una noche para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color beige (15,5 mg).

CLEM (Procedimiento A): Tr 0,65 min, MH^+ 441. RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ = 13,47 (s a, 1H), 11,38 (s a, 1H), 10,17 (s a, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,51 (s a, 1H), 7,49 (dt, J = 1,0, 7,5 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 3,0 Hz, 1H), 7,25 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 7,23 (dd, J = 1,5, 7,0 Hz, 1H), 6,60 (ddd, J = 1,0, 2,0, 3,0 Hz, 1H), 4,17 (s a, 2H), 3,50 - 3,39 (m, 3H), 3,35 - 3,25 (m, 2H), 3,22 - 3,11 (m, 2H), 2,99 - 2,76 (m, 2H), 1,24 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

Ejemplo 12

(R)-mandelato de N-[5-[4-(5-[[2,6-dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-metanosulfonamida



Procedimiento A

Se suspendió N-[5-[4-(5-[[2,6-dimetil-4-morfolmil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (113 mg, 0,220 mmol) en agua (18 ml) y se añadió ácido (R)-mandélico (solución 0,33 M en agua, 735 μ l, 0,242 mmol). La mezcla se agitó a TA durante una noche y después se concentró y se secó en un horno de vacío a 50 °C durante una noche para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco

(133 mg).

CLEM (Procedimiento A): Tr 0,60 min, MH⁺ 513.

5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,53 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,43 - 7,24 (m, 5H), 5,01 (s, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,75 (s, 2H), 3,63 - 3,52 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,81 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 1,78 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 1,04 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

Nota - mandelato únicamente presente a una relación molar de 0,8.

Procedimiento B

10 Se suspendió N-[5-[4-(5-[[[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (3,17 mg) en dextrosa al 5 %/agua (3 ml). Se añadió una solución acuosa a 100 mg/ml de ácido (R)-mandélico (10 µl) y la mezcla se agitó durante 45 min para dar el compuesto del título en forma de una solución transparente.

Polimorfo y sal experimental

Ejemplo 10

Difracción de polvo de rayos X (XRPD)

15 Los datos se adquirieron en un difractor de polvo PANalytical X'Pert Pro, modelo PW3040/60, número de serie DY1850 usando un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu K α , tensión del generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo de inicio: 2,0 °2 θ , ángulo final: 40,0 °2 θ , tamaño de etapa: 0,0167 °2 θ , tiempo por etapa: 31,75 segundos. La muestra se preparó montando unos pocos miligramos de muestra en placas de oblea de Si (fondo cero), dando como resultado una capa fina de polvo.

20 Los datos de difracción de polvo de rayos X (XRPD) se muestran en la Figura 1.

En la Tabla 1 se resumen picos característicos para la forma de estado sólido con separación de red calculada. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 1

2 θ /°	separación d/ Å
5,2	17,0
10,3	8,6
12,8	6,9
14,8	6,0
15,1	5,9
15,6	5,7
16,8	5,3
17,2	5,2
18,3	4,9
19,6	4,5
20,9	4,2
21,3	4,2
21,7	4,1
23,2	3,8
24,0	3,7
24,9	3,6
26,0	3,4
27,1	3,3
27,5	3,2
28,2	3,2
28,5	3,1

Ejemplo 1

25 **Difracción de polvo de rayos X (XRPD)**

Los datos se adquirieron usando un procedimiento similar al descrito anteriormente.

Los datos de difracción de polvo de rayos X (XRPD) para la Forma (I) se muestran en la Figura 2.

En la Tabla 2 se resumen picos característicos para la forma de estado sólido con separaciones de red calculadas. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 2

2θ/°	separación d/ Å
4,5	19,8
6,3	13,9
7,8	11,3
8,8	10,1
9,9	8,9
10,4	8,5
10,7	8,3
11,3	7,8
11,7	7,5
12,2	7,3
12,9	6,9
14,0	6,3
14,5	6,1
15,2	5,8
15,4	5,7
16,1	5,5
16,5	5,4
16,8	5,3
17,7	5,0
17,9	5,0
18,5	4,8
19,0	4,7
20,7	4,3
21,4	4,1
22,4	4,0
22,6	3,9
23,4	3,8
23,7	3,8
24,9	3,6
25,4	3,5
25,7	3,5

5

Preparación de polimorfos adicionales de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida

Forma (II)

10 Se añadió acetato de etilo (15 ml) a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (2,1 g) y se agitó en condiciones ambientales durante una noche. La suspensión resultante se filtró y se secó al vacío a 50 °C para dar una nueva forma de estado sólido (91 %p/p).

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,49 (s a, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,3 Hz, 2H), 1,78 (t, J = 10,3 Hz, 2H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

Forma (III)

5 Se añadió metanol (4 ml) a *N*-[5-[4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,3 g), seguido de ácido fumárico (0,0764 g) en metanol (2 ml). La suspensión resultante se diluyó adicionalmente con metanol (3 ml) y se agitó durante una noche en condiciones ambientales. La suspensión se filtró, se lavó con metanol y se secó al aire para dar una nueva forma de estado sólido (64 %p/p).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6) δ = 13,50 (s a, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,3 Hz, 2H), 1,78 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 6H)

10 **Forma (IV)**

Se saturó tetrahidrofurano con *N*-[5-[4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida a temperatura ambiente y se calentó. La suspensión se enfrió a temperatura ambiente y los sólidos se filtraron, se lavaron con THF y se secaron al vacío a 30 °C para dar una nueva forma de estado sólido.

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6) δ = 13,50 (s a, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,41 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,58 (m, 2,4H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 1,78 (t, J = 10,5 Hz, 2,4H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

La muestra contiene 0,2 equivalentes molares de tetrahidrofurano.

Difracción de polvo de rayos X (XRPD) para las Formas (II) a (IV)

20 Los datos se adquirieron en un difractor de polvo PANalytical X'Pert Pro, modelo PW3040/60 usando un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu Kα, tensión del generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo de inicio: 2,0° 2θ, ángulo final: 40,0° 2θ, tamaño de etapa: 0,0167° 2θ, tiempo por etapa: 31,75 segundos. La muestra se preparó montando unos pocos miligramos de muestra en una placa de oblea de sílice (fondo cero), dando como resultado una capa fina de polvo.

25 La Forma (III) se molió ligeramente con una mano de mortero y un mortero para reducir la orientación preferida.

Forma (II)

Los datos de XRPD se muestran en la Figura 3.

En la Tabla 3 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

30

Tabla 3

2θ /°	separación d/ Å
4,6	19,1
9,2	9,6
11,4	7,8
12,1	7,3
12,7	7,0
13,7	6,5
14,0	6,3
16,0	5,5
17,1	5,2
17,9	5,0
18,5	4,8
18,8	4,7
22,3	4,0
20,8	4,3
23,8	3,7
25,9	3,4

Forma (III)

Los datos de XRPD se muestran en la Figura 4.

En la Tabla 4 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido, Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 4

2θ / °	separación d/ Å
6,7	13,2
8,2	10,8
8,8	10,0
9,7	9,1
11,1	8,0
12,6	7,0
13,6	6,5
14,4	6,1
17,0	5,2
17,7	5,0
18,8	4,7
20,9	4,2
21,3	4,2
22,8	3,9
24,4	3,6
25,3	3,5

5 Forma (IV)

Los datos de XRPD se muestran en la Figura 5.

En la Tabla 5 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido, Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 5

2θ / °	separación d/ Å
5,8	15,2
11,1	8,0
11,6	7,6
14,0	6,3
17,5	5,1
19,3	4,6
22,3	4,0
25,7	3,5

10

Preparación de sales de *N*-[5-[4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolmil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1*H*-mdazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida

Sal de sodio

15 Se añadió metanol (2 ml) a *N*-[5-[4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,3 g), seguido de hidróxido sódico acuoso (0,129 ml) para dar una solución. Se añadió *tert*-butilmetiléter (4 ml) a la solución, seguido de cristales de siembra de la sal de sodio y esta suspensión se agitó durante una noche en condiciones ambientales. La suspensión se filtró, se lavó con *tert*-butilmetiléter (2 ml) y se secó al aire para dar la sal de sodio (0,2312 g) en forma de un hidrato.

20 RMN: Coherente con la formación de sal
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,35 (s a, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,90 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,65 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,62 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,33 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,59 (m, 2H), 2,83 (d, J = 10,3, 2H), 2,61 (s, 3H), 1,78 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

Sal tosilato

Una solución de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,3 g) en tetrahidrofurano (3 ml) se añadió a ácido *p*-toluenosulfónico (0,1224 g) para dar inicialmente una solución. Se formó una suspensión al agitar y se diluyó con tetrahidrofurano (2 ml) y se agitó durante una noche en condiciones ambientales. La suspensión se filtró, se lavó con tetrahidrofurano (2 ml) y se secó al aire dar el tosilato (0,3759 g).

RMN: Coherente con la formación de mono tosilato

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,56 (s a, 1H), 10,38 (s a, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,46 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,69 (s a, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,80 (s a, 2H), 3,50 (s a, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (s a, 2H), 2,28 (s, 3H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H). La muestra contiene 0,5 equivalentes molares de tetrahidrofurano, señales de RMN 3,60 (m, 2H), 1,76 (m, 2H).

Sal maleato

Se añadió metanol (4 ml) a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,3 g), seguido de ácido maleico (0,0749 g) en metanol (2 ml). La solución se dejó cristalizar durante una noche en condiciones ambientales. La suspensión resultante se filtró, se lavó con metanol (1 ml) y se secó al aire para dar el maleato (0,1441 g).

RMN: Coherente con la formación de mono maleato

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,53 (s a, 1H), 9,41 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 6,16 (s, 2H), 4,16 (s a, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,69 (s a, 2H)*, 3,11 (s + s a, 3H + 2H), 2,22 (s a, 2H), 1,10 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

*Aumento parcial en integral debido a solapamiento con pico de HOD ancho.

Sal hemi pamoato

Se añadió tetrahidrofurano (1 ml) a ácido pamoico (0,0759 g) para dar una suspensión. Esta suspensión se añadió a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,2 g). Se añadieron cantidades adicionales de tetrahidrofurano (7 ml) y agua (12 ml) antes de reducir el volumen de la solución en aprox. un 10 % en un flujo de nitrógeno. La suspensión resultante se sometió a ultrasonidos y se agitó en condiciones ambientales durante una noche. La suspensión se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío a 50 °C para dar el hemi pamoato (0,092 g) que contenía 5 %p/p de agua.

RMN: Coherente con formación de hemi pamoato

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,51 (s a, 1H), 9,40 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,42 (m, 2H), 8,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,85 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,33 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,18 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 4,78 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,92 (s a, 2H), 3,63 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,95 (d, J = 11,0 Hz, 2H), 1,97 (m, 2H), 1,07 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

Sal hemi naftalenodisulfonato

Se añadió acetato de isopropilo (12 ml) a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,2 g), seguido de ácido naftalenodisulfónico (0,0703 g) en acetato de isopropilo (2 ml). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 9 días antes de la filtración y secado al vacío a 40 °C durante 3 h para dar el hemi naftalenodisulfonato.

RMN: Coherente con formación de hemi naftalenodisulfonato

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,56 (s a, 1H), 10,38 (s a, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,85 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,93 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,69 (s a, 1H), 7,40 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,68 (s a, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,80 (s a, 2H), 3,50 (s a, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (s a, 2H), 1,15 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

Las integrales a 4,68 y 2,80 están únicamente a 1,6H no a 2H esperado.

Picos extra debidos a aprox. 0,1 equiv. de acetato de isopropilo.

Raman: No coherente con formas de base libre conocidas.

Sal mesitilenosulfonato

Una solución de dihidrato del ácido mesitilenosulfónico (0,0698 g, 0,295 mmol, 1,0equiv.) en tetrahidrofurano (0,5 ml) se añadió a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,1505 g, 0,294 mmol) y se sometió a ultrasonidos para dar una solución transparente. Después de agitar a temperatura ambiente durante aprox. 2 min, la solución había formado una suspensión muy espesa. Esta se mantuvo a temperatura ambiente durante una noche. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con tetrahidrofurano (1-2 ml) antes de secarse al vacío a 50 °C durante una noche para dar la sal mesitilenosulfonato (0,1399 g, 66,8 %p.).

RMN: coherente con formación de sal

RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,56 (s, 1H), 10,39 (s a, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 6,73 (s, 2H), 4,69 (s a, 2H), 4,01 (s, 3H), 3,81 (s a, 2H), 3,49 (s a, 4H), 3,11 (s, 3H), 2,79 (s a, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,15 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

Dos grupos metilo del ácido mesitilensulfónico no se ven puesto que se solapan con la resonancia de d_5H -DMSO.

Hemi bifenildisulfonato

Una solución de ácido bifenildisulfónico (0,0465 g, 0,148 mmol, 0,5equiv.) en tetrahidrofurano (0,2 ml) y agua (0,2 ml) se añadió a *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,1506 g, 0,294 mmol) y se sometió a ultrasonidos para dar una solución que se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de este periodo, la solución se puso sólida debido a un precipitado. Estos sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con tetrahidrofurano (1-2 ml) antes de secarse al vacío a 50 °C durante una noche para dar la sal hemi-bifenildisulfonato (0,117 g, 59,5 %p.)

RMN: coherente con formación de sal

RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 13,55 (s, 1H), 10,37 (s a, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,66 (s + d, J = 8,1 Hz, 1 H + 2H), 7,61 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 4,69 (s a, 2H), 4,01 (s, 3H), 3,81 (s a, 2H), 3,50 (s a, 4H), 3,11 (s, 3H), 2,79 (s a, 2H), 1,16 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

2-Naftalenosulfonato (napsilato)

Se disolvió *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,200 g, 0,390 mmol) en tetrahidrofurano (3,2 ml) y agua (0,8 ml). Por separado, se disolvió ácido 2-naftalenosulfónico (0,081 mg, 0,390 mmol, 1,0equiv.) en tetrahidrofurano (0,8 ml) y se añadió a la solución de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida. Esta se sembró con una sal napsilato previa, sin embargo estas semillas se disolvieron. La solución se dejó evaporar a temperatura ambiente durante 2 días. El sólido de color blanco formado se trituró en agua y se sometió a ultrasonidos antes de filtrarse y lavarse con agua. Los sólidos húmedos se secaron adicionalmente al vacío a 40-50 °C durante 5 días para dar la sal napsilato (254,8 mg, 91 %p.).

RMN: coherente con formación de sal

RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 13,56 (s, 1H), 10,38 (s a, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,00 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,96 (m, 2H), 7,86 (m, 2H), 7,71 (m, 2H), 7,53 (m, 2H), 4,68 (s a, 2H), 4,01 (s, 3H), 3,79 (s a, 2H), 3,50 (s a, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,78 (s a, 2H), 1,14 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

La RMN también muestra algunas impurezas de bajo nivel sin identificar y tetrahidrofurano residual (0,1 equivalentes molares).

Hemi cinamato

Procedimiento A

Se trató *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,02505 g, 0,049 mmol) con ácido trans-cinámico (0,01453 g, 0,098 mmol, 2,0equiv.) en metanol (0,5 ml). Este se calentó con una pistola de aire caliente hasta que sucedió la disolución y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los sólidos precipitaron al volver a temperatura ambiente temperatura ambiente y se dejaron en agitación durante una noche. Los sólidos se filtraron y el disolvente se retiró aplicando vacío a través de la torta para dar la sal.

Procedimiento B

Se disolvieron *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (80 g, 0,156mol) y ácido trans-cinámico (58,66 g, 0,396mol, 2,5equiv.) en metanol (3,2 l) calentando a 65 °C. La solución se enfrió a 60 °C y se sembró con hemi-cinamato de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,0802 g), estos se disolvieron, por lo que la solución se enfrió adicionalmente a 50 °C y se sembró de nuevo con hemi-cinamato de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida. Esta se agitó durante 1 h a 50 °C y después se enfrió a ~0,167 °C/min a 20 °C. Después de 2 h, se recogió una muestra y se comprobó que era la Forma 3 por análisis de Raman. La suspensión se calentó de nuevo a reflujo para dar una solución y se añadió metanol extra (100 ml) para compensar las pérdidas de disolvente que se sufren durante procedimientos prolongados a alta temperatura. La solución se enfrió a 25 °C y la muestra se recogió, se sembró con hemi-cinamato de *N*-[5-[4-(5-[[2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida. Esta muestra sembrada se maduró durante 20 min y después se usó para sembrar el conjunto de la solución. Esta se dejó en agitación a 25 °C durante 16 h. La suspensión se filtró y se absorbió en seco antes de secarse al vacío a 50 °C para dar la sal (75,4 g, 82,5 %p.).

RMN: coherente con formación de sal.

RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 13,49 (s a, 1H), 9,40 (s a, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,68 (m, 1H), 7,57 (d, J = 16,1 Hz, 0,5H), 7,42 (m, 1,5H), 7,35 (s, 1H), 6,55 (d, J = 15,9 Hz, 0,5H), 4,01 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,5, 2H), 1,78 (t, J = 10,5, 2H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

La RMN también muestra metanol residual (señal 3,18 ppm) a <0,1 equivalentes molares.

Hemi sebacato

Se preparó una solución de ácido sebácico (118,6 mg, 0,586 mmol, 2,0 equiv.) en THF (2 ml) y se añadió a *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-

5 sulfonamida (150,6 mg, 0,294 mmol) y se calentó para dar una solución transparente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente con agitación y después de 2 h había presentes sólidos. Se añadió una alícuota adicional de THF en este punto y la suspensión se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Los sólidos se aislaron por filtración y se secaron al vacío a 50 °C durante una noche para dar la sal hemi-sebacato.

RMN: coherente con formación de sal.

10 RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,49 (s, 1H), 11,94 (s a, 1H), 10,38 (s a, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 2,18 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,48 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,25 (s, 4H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

La muestra contiene 0,85 equivalentes molares de tetrahidrofurano – Señales de RMN 3,60 ppm (m, 3,3H) y 1,76 ppm (m, 3,4H).

Hemi piromelitato

15 Se preparó una solución de ácido piromelítico (0,0546 g, 0,215 mmol, 0,55 equiv.) en tetrahidrofurano (1 ml) y se añadió a *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,1999 g, 0,390 mmol), seguido de más cantidad de tetrahidrofurano (1 ml). Esta suspensión se sometió a ultrasonidos, momento en el que los sólidos cambiaron de carácter físico y se quedaron sólidos. Se añadió una alícuota más de tetrahidrofurano (2 ml) y la solución se calentó y se sometió a ultrasonidos, sin embargo no se observó disolución. La suspensión se dejó enfriar y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con tetrahidrofurano (2 ml) antes de secar al vacío durante una noche a 50 °C para dar la sal hemi-piromelitato en forma de un solvato de tetrahidrofurano.

RMN: coherente con formación de sal,

20 RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,52 (s, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 4,01 (s, 5H), 3,60 (m, 6H), 3,11 (s, 3H), 3,02 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 2,06 (s a, 2H), 1,76 (m, 4H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

Las señales de tetrahidrofurano son 3,60 ppm (m, 4H) y 1,76 ppm (M, 4H) correspondientes a 1 equivalente molar.

Hemi bencenodiacrilato

30 Se disolvió ácido 1,4-bencenodiacrílico (0,0431 g, 0,197 mmol, 0,5equiv.) en dimetilsulfóxido (0,5 ml) con calentamiento, esto se añadió a *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida (0,2003 g, 0,391 mmol) y se calentó para dar una solución. Se añadió tetrahidrofurano (1 ml) a la solución y después se calentó y se sometió a ultrasonidos antes de dejarse en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con tetrahidrofurano antes de secarse al vacío a 65 °C durante una noche para dar la sal hemi-bencenodiacrilato (0,1385 g, 57 %p.).

35 RMN: coherente con formación de sal.

RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13,49 (s a, 1H), 12,40 (s a, 1H), 9,38 (s a, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,42 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,73 (s, 2H), 7,58 (d, J = 16,1 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,62 (d, J = 16,1 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,80 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

40 Las señales de tetrahidrofurano son 3,60 ppm (m, 2,7H) y 1,78 ppm (m, 2,7H) correspondientes a 0,68 equivalentes molares. La señal de dimetilsulfóxido es 2,54 ppm (s, 0,7H) correspondiente a 0,12 equivalentes molares.

Preparación de polimorfo de 6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

45 Se disolvió 6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (25 g) en dimetilformamida (DMF, 240 ml) y se filtró (filtro de porosidad 4). Se usó DMF (10 ml) como enjuague de línea para lavar el material de vidrio y se filtró. El material se sometió a cromatografía en inyecciones de 14 x 17-18 ml y una inyección final de aprox. 10 ml. Las fracciones que contenían 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol se evaporaron al vacío a temperaturas de hasta 40 °C. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua (100 ml) y se secó a 60 °C al vacío durante una noche.

50 Condiciones cromatográficas:

Sistema de HPLC Varian SD-1

Columna: Phenomenex Luna C18 (II), 50 x 243 mm

Eluyente A: acetato amónico 0,1 M ajustado a pH 8,0 con amoniaco 0,88

Eluyente B: Acetonitrilo

55 Detector: 350 nm gama 12

Inyección: aprox. 17-18 ml de solución en DMF (1 g por 10 ml de DMF)

RMN concordante con el espectro esperado: RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 13,42 (s a, 1H), 11,35 (s a, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,08 (d J = 1,2 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,24 (m, 2H), 6,61 (s, 1H), 3,73 (s, 1H), 2,58 (m,

1H), 2,45 (s a, 4H), 0,94 (d J = 6,6 Hz, 6H)

Es probable que el singlete ancho a 2,45 ppm contenga un poco de los protones alifáticos restantes; sin embargo es poco probable que la integración sea precisa debido al solapamiento con el pico de DMSO (d5). Es probable que los protones alifáticos restantes estén bajo el pico de DMSO (d5).

5 Preparación de sales de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y polimorfos de los mismos

Tosilato

10 Se suspendió 6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (1,5013 g) en acetonitrilo (10 ml) y se agitó. Por separado, se disolvió monohidrato del ácido p-toluenosulfónico (679,5 mg, 1,05 equiv.) en acetonitrilo (5 ml) y se añadió. Inmediatamente se formó un precipitado gomoso y se sometió a ultrasonidos y se trituró para para movilizar la masa sólida. La suspensión se sembró con sal tosilato cristalina y se dejó en agitación durante una noche. Los sólidos se aislaron y se secaron al vacío a 50 °C. RMN concordante con el espectro esperado:

15 RMN (400 MHz, DMSO-d6): 13,45 (s a, 1H), 11,37 (s a, 1H), 8,92 (s a, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,48 (m, 4H), 7,43 (s, 1H), 7,24 (m, 2H), 7,12 (d J = 8,1 Hz, 2H), 6,61 (s, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,42 (m, 3H), 3,13 (m, 4H), 2,54 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 1,23 (d J = 6,4 Hz, 6H)

No se ven aquí protones alifáticos, es posible que se encuentren bajo el pico de DMSO (d5).

La semilla de sal tosilato cristalina puede prepararse mediante el siguiente procedimiento:

20 Se suspendió 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (0,1003 g) en acetonitrilo (1,5 ml) y se agitó. Por separado, se disolvió monohidrato del ácido toluenosulfónico (45,6 mg, 1,05 equiv.) en acetonitrilo (0,5 ml) y se añadió a la suspensión de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol. Se formó un precipitado gomoso, que se dejó en agitación durante 10 min. La muestra se calentó a aproximadamente 50 °C y se sometió a ultrasonidos con un pequeño efecto visual. Los sólidos se agitaron manualmente con una espátula para 25 movilizarlos y se agitaron durante 4 días a temperatura ambiente. Los sólidos se filtraron y se absorbieron en seco.

Hemi fumarato

Se suspendieron 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (1,5014 g) y ácido fumárico (217,2 mg, 0,56equiv.) en IMS (15 ml) y se agitaron a temperatura ambiente durante una noche. La suspensión se filtró y se absorbió en seco antes de secarse al vacío a 50 °C durante una noche. 30 RMN concordante con el espectro esperado:

RMN (400 MHz, DMSO-d6): 13,47 (s a, 1H), 11,37 (s a, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,24 (m, 2H), 6,61 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 3,76 (s, 2H), 2,74 (m, 1H), 2,58 (s a, 7H), 1,00 (d J = 6,6 Hz, 6H).

35 Es probable que el singlete ancho a 2,58 ppm contenga protones alifáticos restantes; sin embargo es poco probable que la integración sea precisa debido al solapamiento con el pico de DMSO (d5).

Hemi succinato

40 Se añadieron licores metilados industriales (IMS, 1 ml) a 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol (0,1006 g) y se agitaron. Por separado, se disolvió ácido succínico (28,3 mg, 1,05 equiv.) en IMS (1 ml) y después se añadió a la suspensión de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y se agitó a temperatura ambiente durante el fin de semana (aprox. 72 h). Los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con IMS (aprox. 1 ml) antes de secarse al vacío a 50 °C. RMN concordante con el espectro esperado:

45 RMN (400 MHz, DMSO-d6): 13,42 (s a, 1H), 11,36 (s a, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,09 (d J = 1,2 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,25 (m, 2H), 6,62 (s, 1H), 3,76 (s, 2H), 2,67 (m, 1H), 2,40 (s, 2H), 0,98 (d J = 6,6 Hz, 6H)

No se ven aquí protones alifáticos, es probable que se encuentre bajo el pico de DMSO (d5)

Difracción de polvo de rayos X (XRPD) para el polimorfo de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y los polimorfos de las sales de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

50 Los datos se adquirieron en un difractómetro de polvo PANalytical X'Pert Pro, modelo PW3040/60, usando un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu K α , tensión del generador: 40 kV, corriente del

generador: 45 mA, ángulo de inicio: 2,0 °2 θ , ángulo final: 40,0 °2 θ , tamaño de etapa: 0,0167 °2 θ , tiempo por etapa: 31,75 segundos. La muestra se preparó montando unos pocos miligramos de muestra en una placa de oblea de sílice (fondo cero), dando como resultado una capa fina de polvo.

Polimorfo de 6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

5 Los datos de XRPD se muestran en la Figura 6.

En la Tabla 6 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 6

2 θ / °	separación d/ Å
8,0	11,0
9,0	9,9
9,6	9,2
10,4	8,5
12,5	7,1
13,3	6,7
14,4	6,1
16,5	5,4
19,3	4,6
19,7	4,5
20,3	4,4
21,6	4,1
22,7	3,9
24,4	3,6

10 **Polimorfo de la sal tosilato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol**

Los datos de XRPD se muestran en la Figura 7.

En la Tabla 7 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

15

Tabla 7

2 θ / °	separación d/ Å
6,3	13,9
9,3	9,5
11,3	7,9
11,6	7,6
12,7	7,0
13,2	6,7
14,2	6,2
15,6	5,7
15,8	5,6
17,1	5,2
18,7	4,7
19,5	4,5
20,3	4,4
21,0	4,2
22,3	4,0
25,7	3,5

Polimorfo de la sal hemi fumarato de 6-(1H-Indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

Los datos de XRPD se muestran en la Figura 8.

- 5 En la Tabla 8 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 8

2θ / °	separación d/ Å
6,9	12,7
8,7	10,2
13,8	6,4
14,4	6,1
17,6	5,0
18,0	4,9
18,9	4,7
21,1	4,2
22,6	3,9
25,8	3,5

Polimorfo de la sal hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol

- 10 Los datos de XRPD se muestran en la Figura 9.

En la Tabla 9 se resumen ángulos de XRPD y separaciones d características para la forma de estado sólido. Las posiciones de los picos se midieron usando software Highscore.

Tabla 9

2θ / °	separación d/ Å
7,2	12,3
13,2	6,7
14,0	6,3
18,0	4,9
19,1	4,6
19,7	4,5
20,7	4,3
23,2	3,8
26,3	3,4

15 **Datos biológicos**

Ensayos PI3K alfa, beta, delta y gamma

Principio de ensayo

- 20 La lectura del ensayo explota la unión específica y de alta afinidad de PIP3 a un dominio de homología con plecstrina (PH) aislado en la generación de una señal. Brevemente, el producto de PIP3 se detecta mediante el desplazamiento de PIP3 biotinilado desde un complejo de transferencia de energía que consiste en anticuerpo monoclonal anti-GST marcado con europio (Eu), un dominio de PH marcado con GST, biotina-PIP3 y estreptavidina-APC. La excitación del Eu da lugar a una transferencia de energía a APC y una emisión de fluorescencia sensibilizada a 665 nm. PIP3 formado por actividad de PI3 cinasa compite por el sitio de unión en el dominio PH, dando como resultado una pérdida de transferencia de energía y una disminución de la señal.

25

Protocolo de ensayo

5 Los compuestos sólidos se siembran típicamente con 0,1 µl de DMSO al 100% en todos los pocillos (excepto en las columnas 6 y 18) de una placa Greiner de 384 pocillos de fondo en V y bajo volumen. Los compuestos se diluyen en serie (4 veces en DMSO al 100%) por toda la placa desde la columna 1 hasta la columna 12 y de la columna 13 a la columna 24 y se dejan las columnas 6 y 18 solo con DMSO para dar 11 concentraciones para cada compuesto de ensayo.

Los ensayos se ejecutan usando kits de PI3K cinasas de Millipore (Nº de Cat 33-001).

El kit de ensayo consiste en lo siguiente:

- 10 • 4 x tampón de reacción de PI3K (Contiene 200 mM de Hepes pH 7, NaCl 600 mM, MgCl₂ 40 mM, <1 % de colato (p/v), <1% de chaps (p/v), azida de sodio al 0,05% (p/v))
- PIP2 (1mM)
- 3xBiotina PIP3 (50 µM)
- Mezcla de Detección C (Contiene KF 267mM)
- mezcla de Detección A (Contiene estreptavidina-APC 60 µg/ml)
- 15 • Mezcla de Detección B (Contiene 36 µg/ml de europio-anti-GST(Anti-GST-K) y 90 µg/ml de GST-GRP1-dominio PH y DTT 1 mM)
- Solución de parada (Contiene EDTA 150 mM)

20 Se añaden manualmente 3 µl de tampón de reacción (que contiene DTT 1 mM) a la columna 18 solo para el control de inhibición al 100 % (sin actividad). Se añaden manualmente 3 µl de solución enzimática 2X a todos los pocillos excepto los de la columna 18. Se preincuba con compuestos durante 15 minutos. Se añaden manualmente 3 µl de solución de sustrato 2 X a todos los pocillos (la columna 6 representa el control de inhibición al 0%)

Se deja la placa durante 1 hora (cubierta protegida de la luz) (en el caso de Gamma solo se necesita una incubación de 50 min).

25 Se añaden manualmente 3 µl de solución de parada/detección a todos los pocillos.

Se deja la placa durante 1 hora (cubierta protegida de la luz).

El ensayo se lee en el dispositivo BMG Rubystar y la proporción de los datos se utiliza para calcular 11 curvas de puntos.

NB. La solución de sustrato (concentraciones) difiere con cada isoforma (véase más adelante)

Alfa

30 Solución de sustrato 2 x que contiene ATP 500 µM, PIP2 16 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

Beta

Solución de sustrato 2 x que contiene ATP 800 µM, PIP2 16 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

Delta

Solución de sustrato 2X que contiene ATP 160 µM, PIP2 10 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

35 **Gamma**

Solución de sustrato 2X que contiene ATP 30 µM, PIP2 16 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

Procedimiento de análisis

Los datos se procesaron mediante el algoritmo de ajuste de curva logístico de 4 parámetros XC50 en Activity Base.

Se normaliza a un % de inhibición entre los controles altos y bajos (0% y 100% de inhibición, respectivamente).

40 Ajuste de módulo primario: Varían la pendiente y las asíntotas mínimas y máximas.

Ajustes de módulo secundario: (1) Se fija la asíntota mínima, (2) Se fija la asíntota máxima, (3) Se fijan las asíntotas mínimas y máximas

QC de ajuste de curva: pXC50 95% proporción CL > 10

45 -20 < asíntota mínima < 20

80 < asíntota máxima < 120

Los compuestos y sales de los ejemplos 1 a 72 y 74 a 105 se ensayaron en los ensayos de PI3K alfa, beta, delta y/o gamma anteriores o en ensayos similares y se observó que tenían un pCI₅₀ en el ensayo de PI3K delta de al menos 5 o mayor.

Ensayo del virus de la gripe

Se evalúa el impacto de los compuestos de ensayo en la infección por el virus de la gripe usando ensayos de citoprotección en células A549. Brevemente, se incuba el virus en presencia o ausencia de compuesto de ensayo con células A549 durante 7 días a un título de virus seleccionado para inducir de un 85 a un 95 % de pérdida de la viabilidad celular debido a la replicación del virus. La citoprotección es una medida de la eficacia antivírica ya que se observa cuando los compuestos evitan la replicación del virus. La citoprotección y la citotoxicidad del compuesto se evalúan mediante la reducción del colorante MTS (reactivo CellTiter®96, Promega, Madison WI). Se determina el % de reducción de los efectos citopáticos del virus y se determina la CI₅₀. Se determina el % de reducción de la viabilidad inducido por el compuesto en ausencia de virus como medida de la citotoxicidad y se determina la CT₅₀ (concentración que da como resultado una muerte celular del 50 %). Cada ensayo incluye ribavirina (RBV) y zanamavir como controles positivos.

Las células A549 (epiteliales humanas) se obtienen de la American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, Maryland) y se cultivan en DMEM/F-12K complementado con suero bovino fetal (FBS) al 10%, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, L-glutamina 2,0 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin ("medio de crecimiento"). Las células se subcultivan dos veces a la semana a una relación de división de 1:4 usando técnicas de cultivo celular convencionales. Las determinaciones del número total de células y de viabilidad celular se llevan a cabo usando un hemocitómetro y exclusión de azul de tripano. La viabilidad celular tiene que ser mayor del 95 % para las células para que puedan usarse en el ensayo.

A/Hong Kong/8/68 (H3N2), A/PR/8/34 (H1N1), A/Victoria/3/75 (H3N2), AWS/33 (H1N1), B/Lee/40, y B/Russia/69 se obtienen de la American Type Culture Collection (ATCC) y se cultivan en células MDCK para la producción de una reserva de virus y se determinaron los títulos en células A549.

Las células A549 se siembran en placas de cultivo tisular de 96 pocillos el día antes del ensayo a una concentración de 1×10^4 células/pocillo en DMEM/F-12K complementado con suero bovino fetal (FBS) al 2 %, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, L-glutamina 2,0 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin, y 1,0 µg/ml de TPCK tripsina y se incubaron a 37°C con CO₂ al 5 %. El día del ensayo, se extrae una alícuota de virus del congelador a -80°C y se deja descongelar lentamente hasta temperatura ambiente. El virus se resuspende y se diluye en medio de cultivo tisular de tal forma que la cantidad de virus añadida a cada pocillo sea la cantidad determinada para inducir una muerte celular de entre el 85 y el 95 % a los 7 días después de la infección. Los compuestos se disuelven en DMSO a concentraciones de 10 mM y se diluyen en DMSO puro para preparar las diluciones en serie adecuadas. Se transfieren 5 µl de la dilución a 995 µl de medio para preparar el compuesto a 2X. Se añaden 50 µl del compuesto a 2X a una placa de 96 pocillos, donde se mezcla a 1:1 con 50 µl de virus o de medio, dando como resultado compuesto a 1X en los pocillos (0,1, 1 y 10 µM de compuesto, concentración final de DMSO del 0,25 % en el ensayo). Se ensaya la eficacia antivírica de los compuestos por triplicado, a la vez que también se efectúan medidas por duplicado en ausencia de virus como medida de la citotoxicidad celular. Se añade DMSO a los pocillos de control. Las placas de ensayo se preparan para que contengan pocillos de control de células (solo células), pocillos de control de virus (células más virus), pocillos de control de la toxicidad del compuesto (células más solo compuesto), pocillos de control colorimétrico de compuesto (solo compuesto), así como pocillos experimentales (compuesto más células más virus). Al terminar el ensayo (7 días después de la infección), se tiñen las placas de ensayo con el colorante a base de tetrazolio MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio; reactivo CellTiter 96, Promega) para determinar la viabilidad celular y cuantificar la toxicidad del compuesto. El MTS se metaboliza por las enzimas mitocondriales de las células metabólicamente activas para proporcionar un producto soluble de formazano, permitiendo un rápido análisis cuantitativo de la viabilidad celular y de la citotoxicidad del compuesto. Al terminar el ensayo, se añaden 20-25 µl de reactivo MTS por pocillo y después las placas de microtitulación se incuban durante 4-6 h a 37°C, con CO₂ al 5 % para evaluar la viabilidad celular. En lugar de las tapas, se usan selladores de placas adhesivos, la placa cerrada herméticamente se invierte varias veces para mezclar el producto de formazano soluble y la placa se lee espectrofotométricamente a 490/650 nm con un lector de placas Vmax de Molecular Devices o SpectraMax Plus.

Los resultados obtenidos para los dos compuestos en el ensayo anterior o en uno similar se muestran en la tabla 1 a continuación. En la tabla 1, el compuesto A es clorhidrato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol y el compuesto B es N-[5-[4-(5-((2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfon amida.

Tabla 1

Compuesto / Unidades	Aislado del virus de la gripe	CI ₅₀	CT ₅₀	Comentarios
Compuesto A (µM)	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	-	>10	inhibición del 40,4% observada a 10 µM
Compuesto A (µM)	A/PR/8/34 (H1N1)	-	>10	inhibición del 15,9% observada a 10 µM
Compuesto A (µM)	A/Victoria/3/75 (H3N2)	9,19	>10	

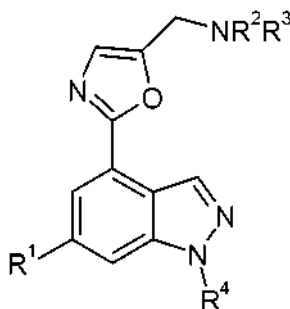
ES 2 602 972 T3

(continuación)

Compuesto / Unidades	Aislado del virus de la gripe	CI50	CT50	Comentarios
Compuesto A (µM)	A/WS/33 (H1N1)	-	>10	inhibición del 21,4% observada a 10 µM
Compuesto A (µM)	B/Lee/40	4,61	>10	
Compuesto A (µM)	B/Russia/69	3,53	>10	
Compuesto B (µM)	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	-	>10	inhibición del 13,7% observada a 10 µM
Compuesto B (µM)	A/PR/8/34 (H1N1)	-	>10	inhibición del 35% observada a 10 µM
Compuesto B (µM)	A/Victoria/3/75 (H3N2)	-	>10	inhibición del 11,4% observada a 10 µM
Compuesto B (µM)	A/WS/33 (H1N1)	-	>10	inhibición del 0,1% observada a 10 µM
Compuesto B (µM)	B/Lee/40	7,94	>10	
Compuesto B (µM)	B/Russia/69	4,65	>10	
Ribavirina (µg/ml)	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	6,59	>100	Compuesto de control activo
Ribavirina (µg/ml)	A/PR/8/34 (H1N1)	7,35	>100	Compuesto de control activo
Ribavirina (µg/ml)	A/Victoria/3/75 (H3N2)	6,01	>100	Compuesto de control activo
Ribavirina (µg/ml)	A/WS/33 (H1N1)	7,34	>100	Compuesto de control activo
Ribavirina (µg/ml)	B/Lee/40	6,65	>100	Compuesto de control activo
Ribavirina (µg/ml)	B/Russia/69	4,75	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	0,871	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	A/PR/8/34 (H1N1)	0,984	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	A/Victoria/3/75 (H3N2)	0,832	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	A/WS/33 (H1N1)	0,743	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	B/Lee/40	2,52	>100	Compuesto de control activo
Zanamivir (µM)	B/Russia/69	3,25	>100	Compuesto de control activo

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (VI)



(VI)

en la que

- 5 R¹ es heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno, y está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, halo, -CN o -NHSO₂R⁵, o piridinilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆, -OR⁶, halo y -NHSO₂R⁷;
- 10 R² y R³, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se engarzan para formar un heterociclilo de 6 o 7 miembros, en el que el heterociclilo de 6 o 7 miembros contiene opcionalmente un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno adicional y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆;
- 15 R⁴ es hidrógeno o metilo;
- R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄; y
- R⁵ y R⁷ son cada uno independientemente alquilo C₁₋₆, o fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

20 2. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

- N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;
- N*-[5-[4-(5-[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;
- 25 *N*-[5-[4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobencenosulfonamida;
- 2,4-difluoro-*N*-[5-[4-(5-[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]bencenosulfonamida;
- 4-(5-[(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol;
- 30 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;
- 6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol;
- N*-[5-[4-(5-[(2R,6R)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;
- 6-(1H-indol-4-il)-4-[5-(1-piperazinilmetil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol;

35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto que es:

N-[5-[4-(5-[2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metanosulfonamida;

40 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

4. Un compuesto que es:

N-[5-[4-(5-[[2R,6S]-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-oxazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metiloxi)-3-piridinil]metano-sulfonamida;

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

5. Un compuesto que es:

6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

10 6. Un compuesto que es:

hemi succinato de 6-(1H-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-oxazol-2-il)-1H-indazol;

para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

15 7. El uso de un compuesto de fórmula (VI) como se ha definido en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de infección por virus de la gripe.

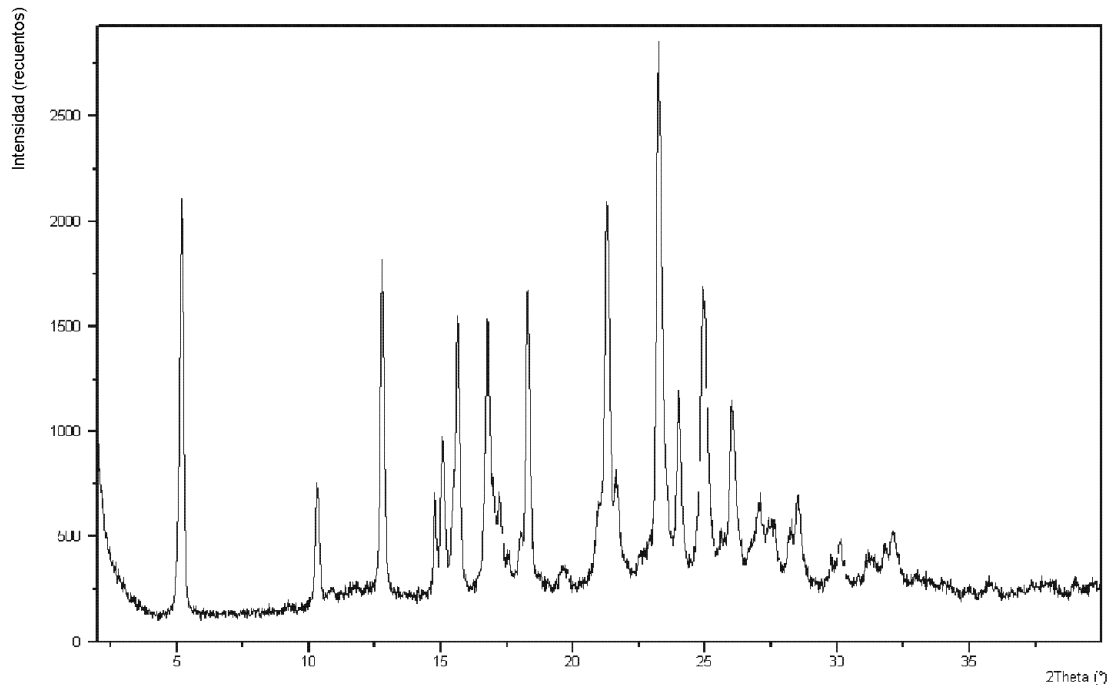


Figura 1

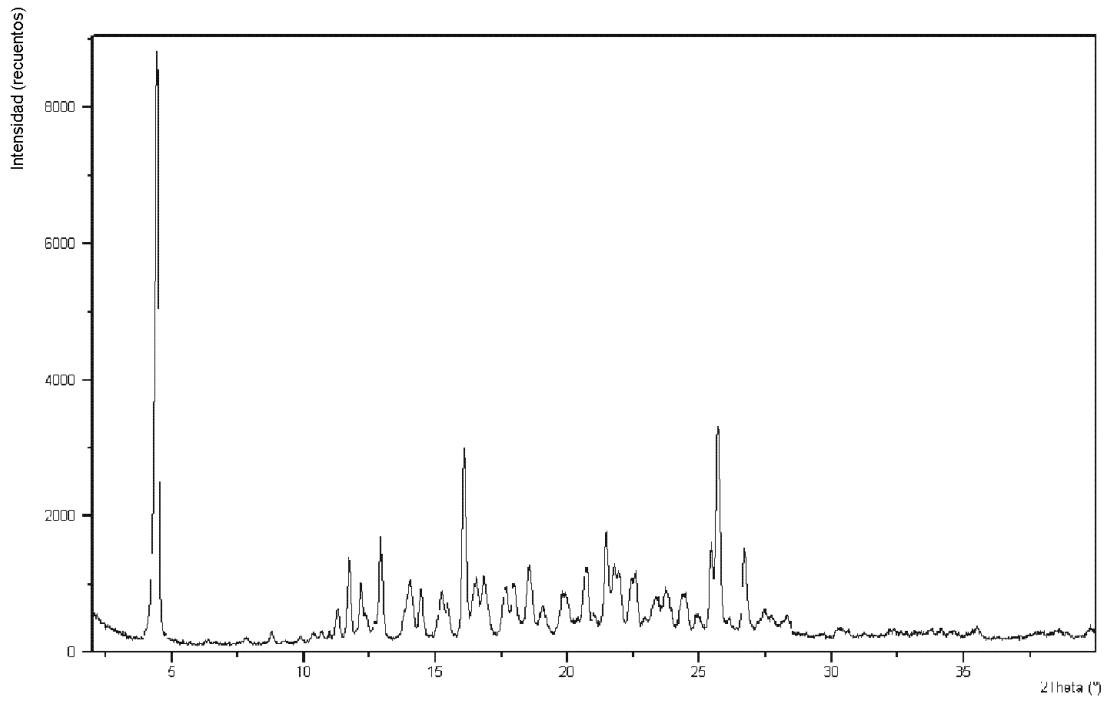


Figura 2

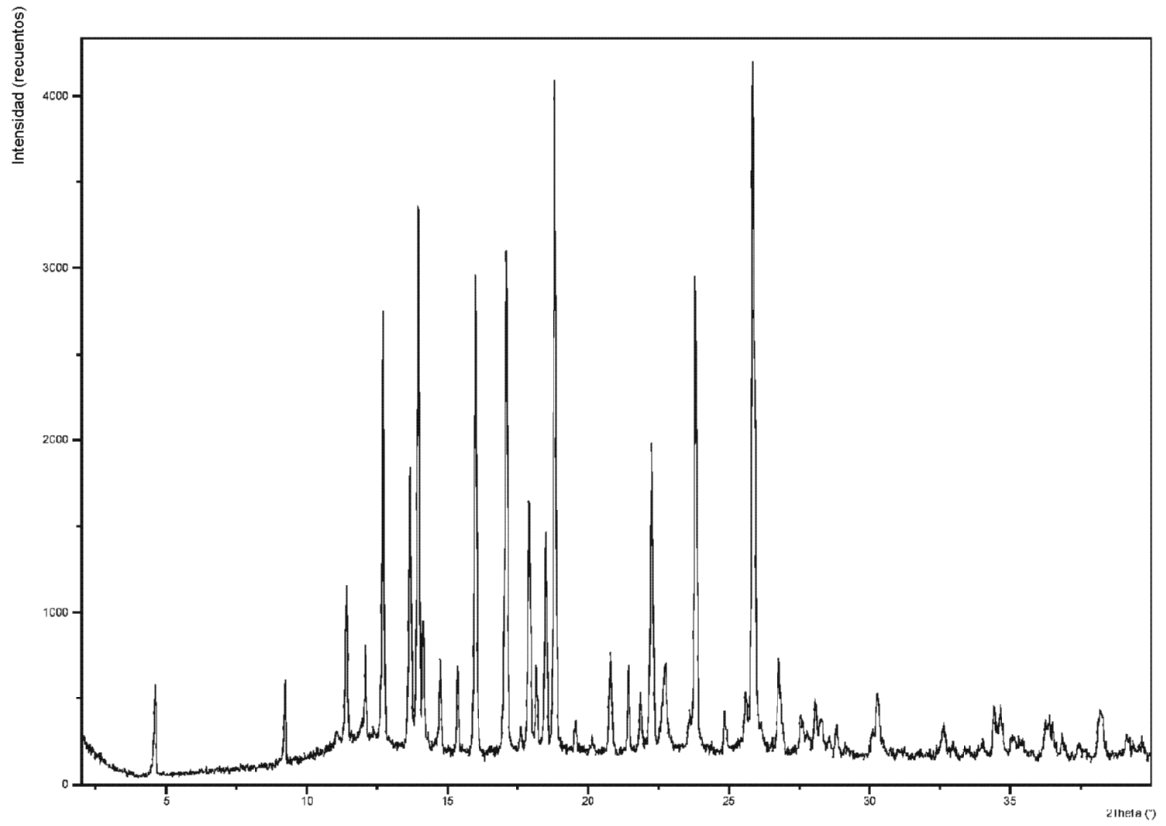


Figura 3

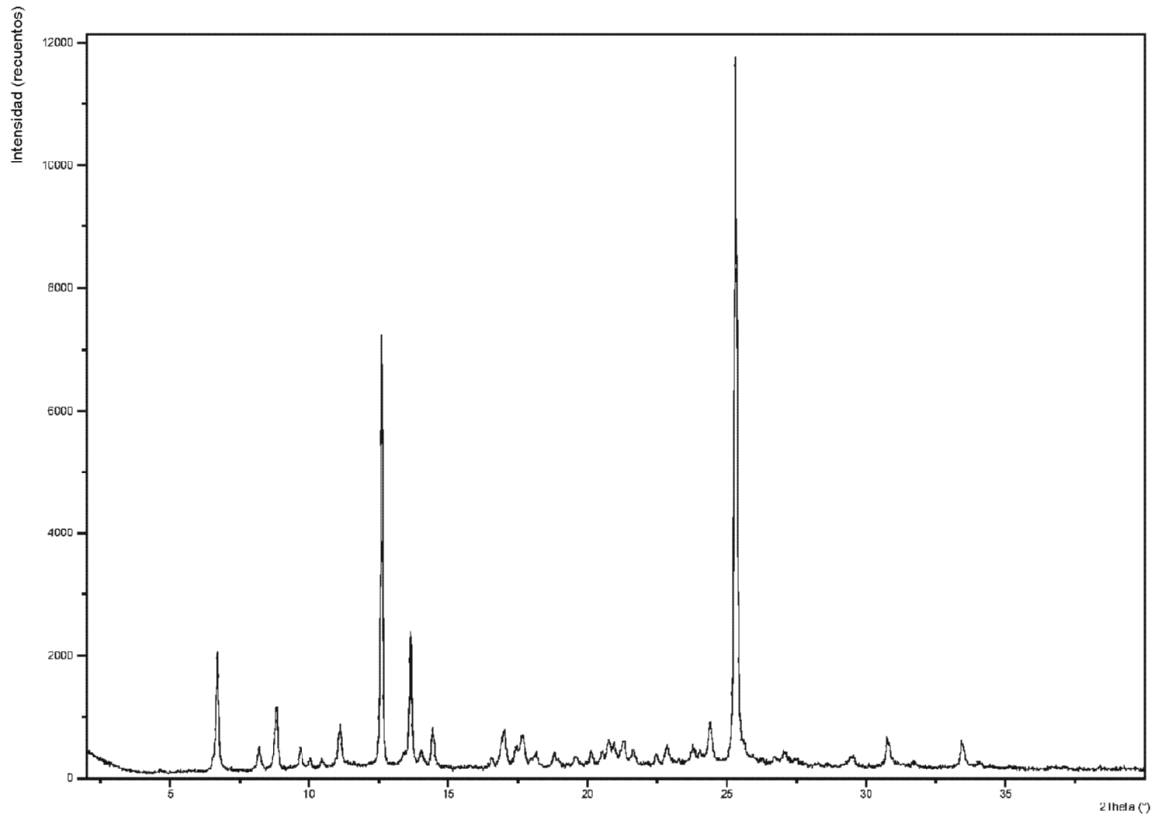


Figura 4

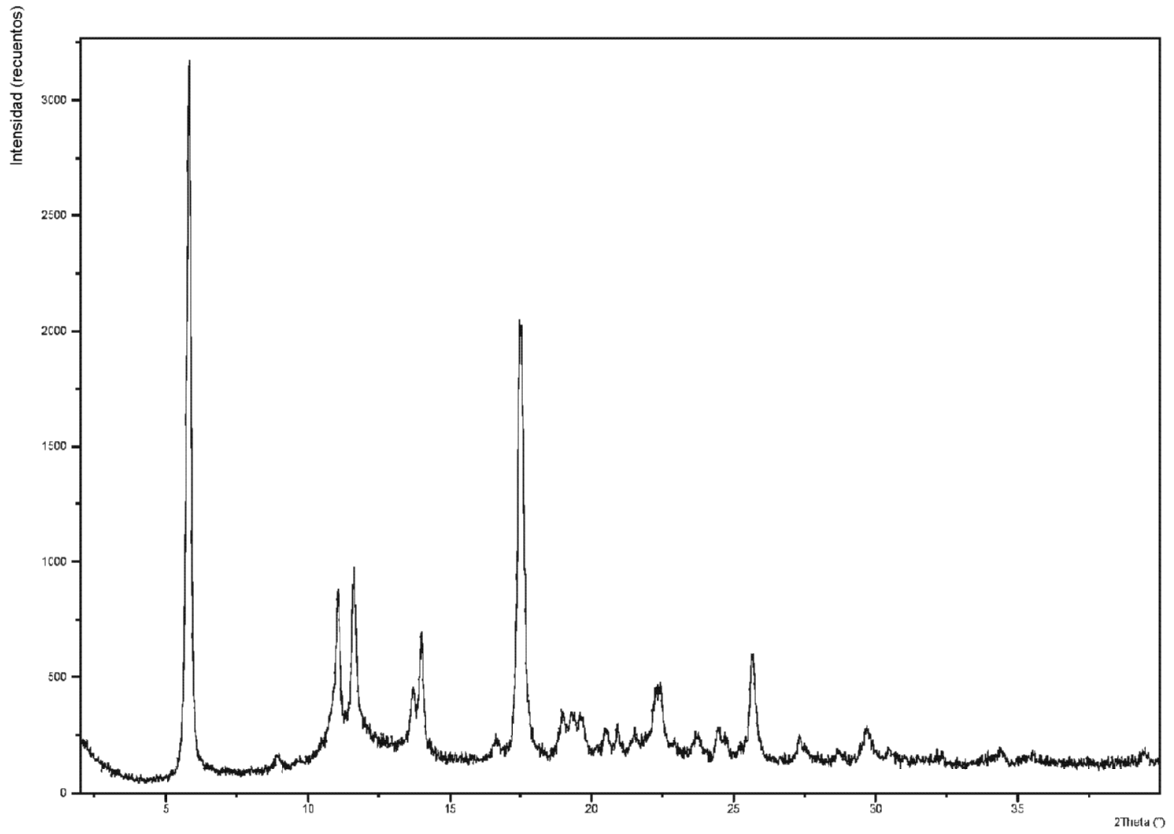


Figura 5

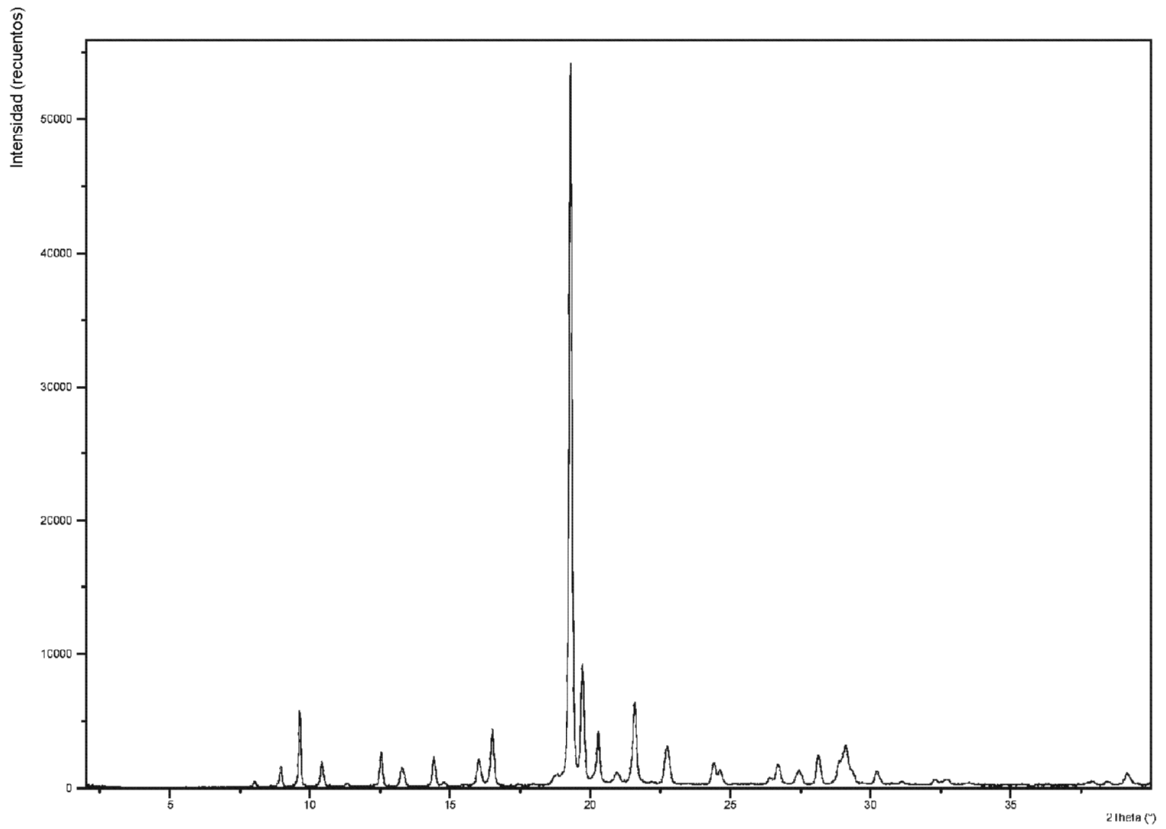


Figura 6

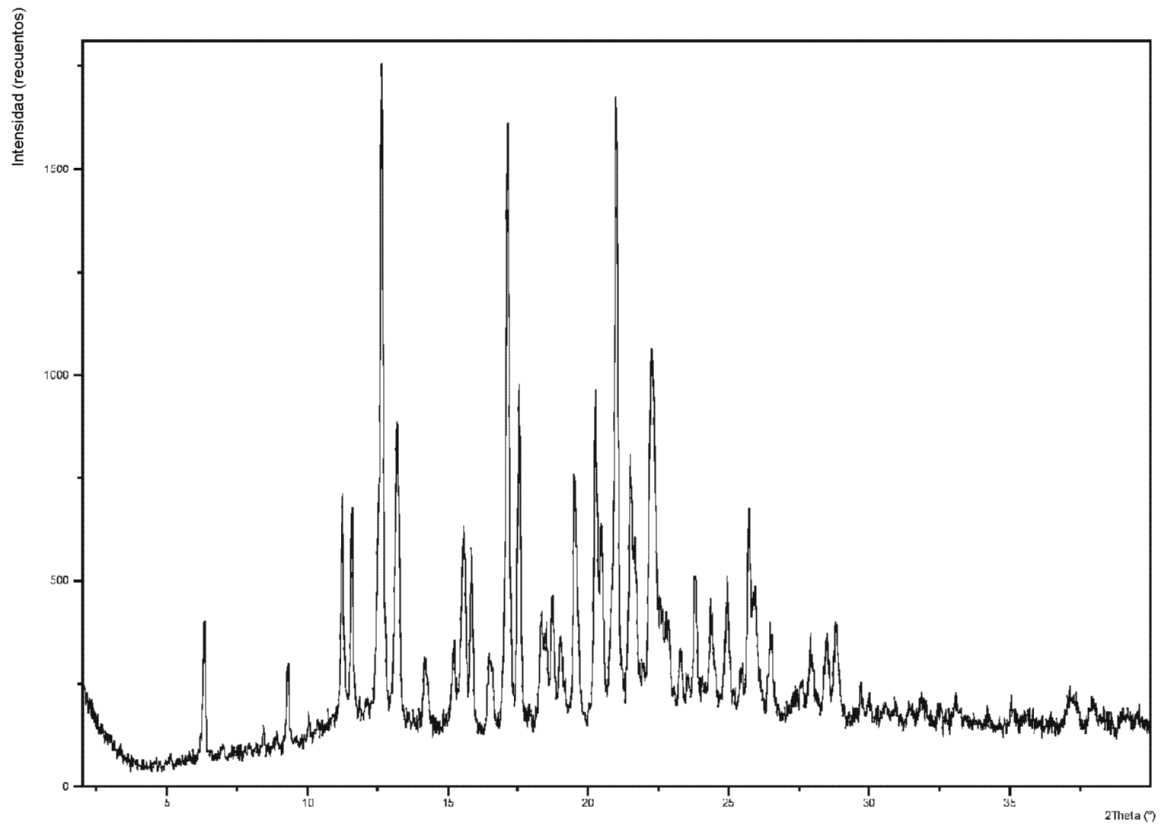


Figura 7

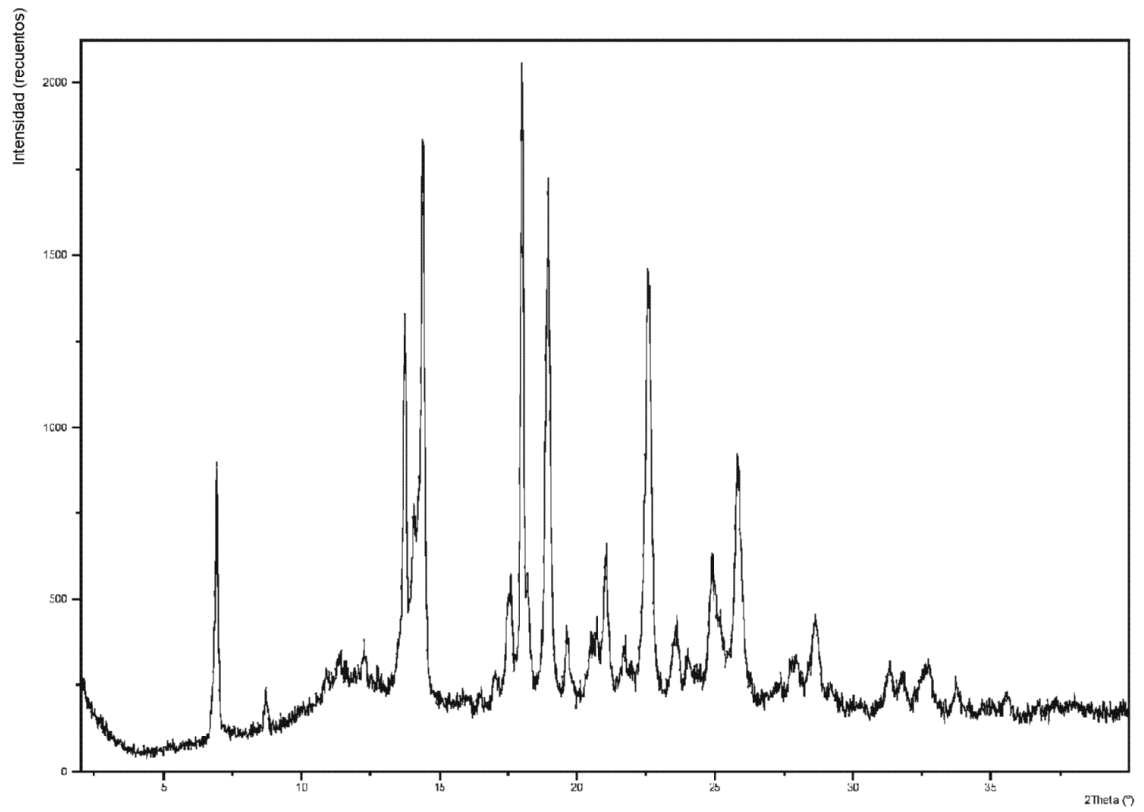


Figura 8

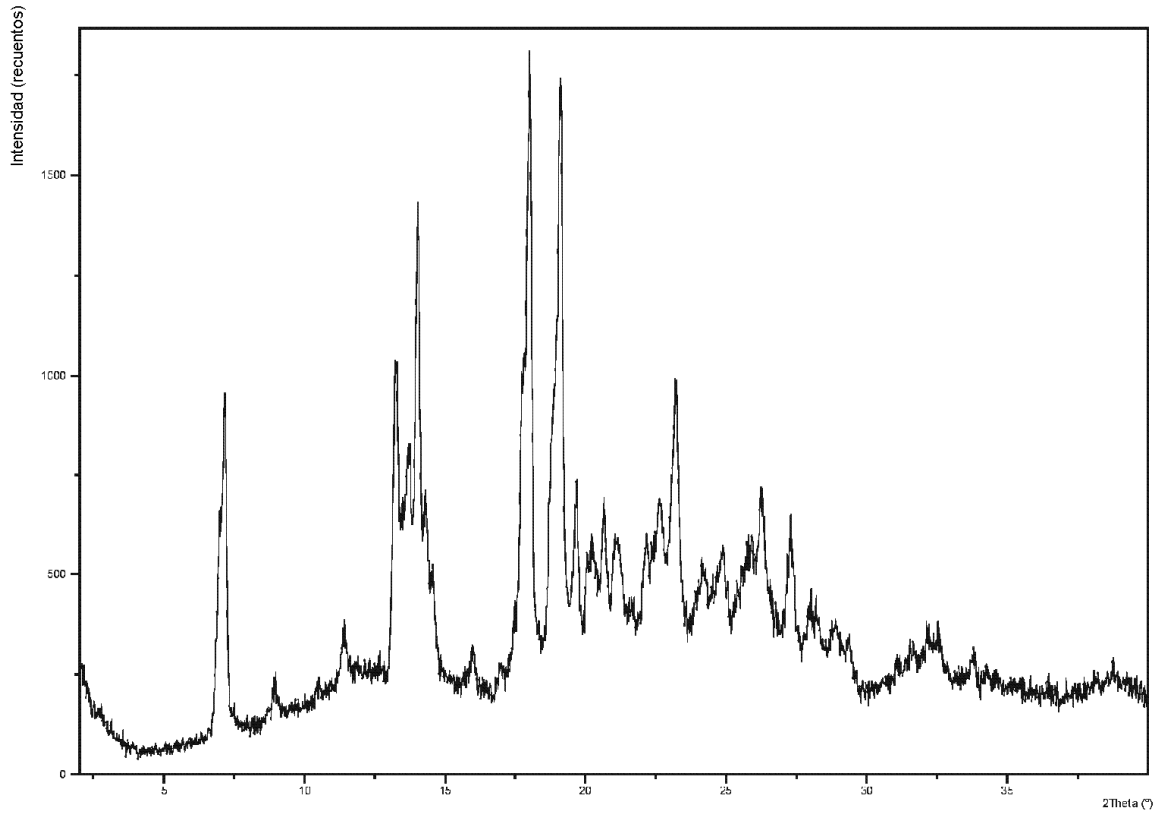


Figura 9