

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 238**

51 Int. Cl.:

C07D 215/44 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/4706 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.04.2012** **PCT/EP2012/057113**
87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2012** **WO2012143415**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2012** **E 12718620 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016** **EP 2699551**

54 Título: **Derivados de tetrahidroquinolinas como inhibidores de bromodominio**

30 Prioridad:

21.04.2011 GB 201106750

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.06.2017

73 Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centerville
Road, Suite 400
Wilmington DE 19808, US

72 Inventor/es:

AMANS, DOMINIQUE;
DEMONT, EMMANUEL HUBERT;
MITCHELL, DARREN JASON y
SEAL, JONATHAN THOMAS

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 615 238 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 tetrahydroquinolinas como inhibidores de bromodominio

Campo de la invención

La presente invención se refiere a derivados de tetrahydroquinolina, a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y a su uso en terapéutica.

Antecedentes de la invención

Los genomas de los organismos eucariotas están altamente organizados dentro del núcleo de la célula. Las cadenas largas de ADN bicatenario se envuelven alrededor de un octómero de proteínas histonas (que más por lo general comprenden dos copias de las histonas H2A, H2B H3 y H4) para formar un nucleosoma. Esta unidad básica se comprime adicionalmente por la agregación y el plegamiento de los nucleosomas para formar una estructura de cromatina altamente condensada. Es posible una gama de diferentes estados de condensación y lo ceñido de esta estructura varía durante el ciclo celular, siendo más compacta durante el proceso de división celular. La estructura de la cromatina desempeña un papel crítico en la regulación de la transcripción génica, que no puede producirse eficientemente a partir de la cromatina muy condensada. La estructura de la cromatina está controlada por una serie de modificaciones post traduccionales de las proteínas histonas, en particular las histonas H3 y H4 y más habitualmente dentro de las colas de las histonas que se extienden más allá de la estructura del nucleosoma núcleo. Estas modificaciones incluyen la acetilación, la metilación, la fosforilación, la ubiquitinación, la SUMOilación. Estas marcas epigenéticas se escriben y se borran por enzimas específicas, que ubican los marcadores en residuos específicos dentro de la cola de la histona, formando de este modo un código epigenético, que después es interpretado por la célula para permitir la regulación específica de genes de la estructura de la cromatina y de este modo la transcripción.

La acetilación de histonas se asocia más por lo general a la activación de la transcripción génica, ya que la modificación relaja la interacción del ADN y el octómero de histona cambiando la electrostática. Además de este cambio físico, se unen proteínas específicas a residuos de lisina acetilados dentro de las histonas para leer el código epigenético. Los bromodominios son dominios pequeños bien diferenciados (~110 aminoácidos) dentro de las proteínas que se unen a residuos de lisina acetilados habitualmente pero no exclusivamente en el contexto de las histonas. Existe una familia de aproximadamente 50 proteínas que se sabe que contienen bromodominios y tienen una gama de funciones dentro de la célula.

La familia BET de proteínas que contienen bromodominios comprende 4 proteínas (BRD2, BRD3, BRD4 y BRD-t), que contienen bromodominios en tándem capaces de unirse a dos residuos de lisina acetilados en estrecha proximidad, aumentando la especificidad de la interacción. Se notifica que BRD2 y BRD3 se asocian a las histonas a lo largo de genes transcritos activamente y pueden estar implicadas en la facilitación de la elongación transcripcional (Leroy y col., *Mol. Cell.* 2008 30(1): 51-60), mientras que BRD4 parece estar implicada en el reclutamiento del complejo pTEF- β hacia genes inducibles, dando como resultado la fosforilación de la ARN polimerasa y el aumento del rendimiento de la transcripción (Hargreaves y col., *Cell*, 2009 138(1): 129-145). También se ha notificado que BRD4 o BRD3 pueden fusionarse con NUT (proteína nuclear en los testículos) formando nuevos oncogenes de fusión, BRD4-NUT o BRD3-NUT, en una forma altamente maligna de neoplasia epitelial (French y col. *Cancer Research*, 2003, 63, 304-307 y French y col. *Journal of Clinical Oncology*, 2004, 22 (20), 4135-4139). Los datos sugieren que las proteínas de fusión BRD-NUT contribuyen a la carcinogénesis (*Oncogene*, 2008, 27, 2237-2242). BRD-t se expresa únicamente en los testículos y los ovarios. Se ha notificado que todos los miembros de la familia tienen alguna función en el control o la ejecución de aspectos del ciclo celular y se ha demostrado que permanecen en complejo con los cromosomas durante la división celular - lo que señala un papel en el mantenimiento de la memoria epigenética. Además, algunos virus hacen uso de estas proteínas para unir sus genomas a la cromatina de la célula huésped, como parte del proceso de replicación viral (You y col., *Cell*, 2004 117(3): 349-60).

La solicitud de patente japonesa JP2008-156311 desvela un derivado de bencimidazol que se dice que es un agente de unión al bromodominio BRD2 que tiene utilidad con respecto a la infección/proliferación vírica.

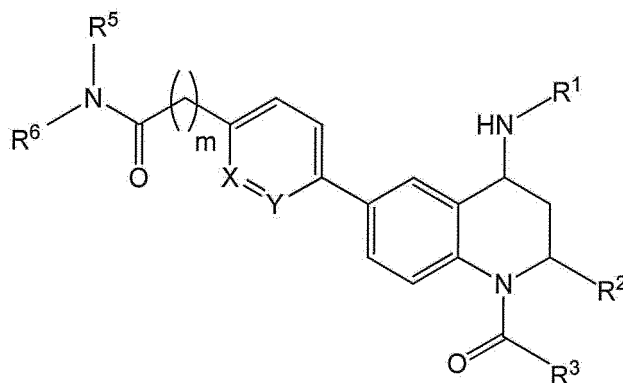
La solicitud de patente WO2009084693 desvela una serie de derivados de tienotriazolodiazepina que se dice que inhiben la unión entre una histona acetilada y una proteína que contiene un bromodominio que se dice que son útiles como agentes antineoplásicos.

Las solicitudes de patente PCT PCT/EP2010/066693(WO2011/054841) y PCT/EP2010/066701 (WO2011/054848) desvelan ambas una serie de derivados de tetrahydroquinolina que inhiben la unión de los bromodominios de la familia BET con residuos de lisina acetilados. La solicitud de patente PCT WO2011/053851 describe un procedimiento para la identificación de moléculas pequeñas que inhiben la unión del primer y el segundo bromodominio de las proteínas de la familia BET humana a residuos de lisina acetilados. La solicitud de patente PCT WO2011/054843 desvela el uso de inhibidores del bromodominio en el tratamiento de enfermedades o afecciones autoinmunes e inflamatorias.

Se ha descubierto una nueva clase de compuestos que inhiben la unión de los bromodominios con sus proteínas acetiladas afines, más particularmente una clase de compuestos que inhiben la unión de los bromodominios de la familia BET a residuos de lisina acetilados. Dichos compuestos se denominarán en lo sucesivo en el presente documento "inhibidores de bromodominio".

5 Sumario de la invención

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo, más en particular una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



(I)

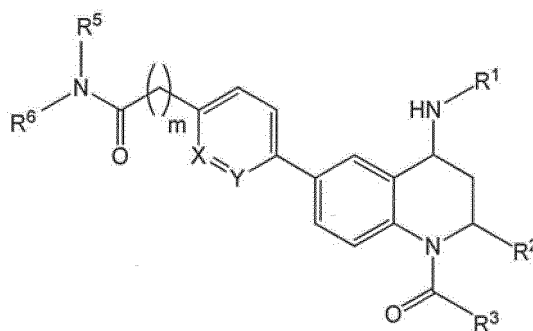
10 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia, en particular en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

15 En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o a una sal del mismo



(I)

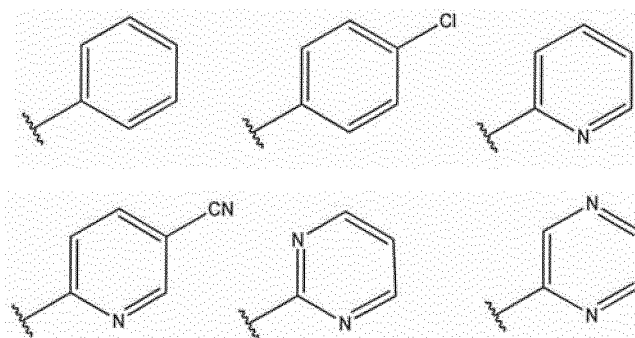
20 en la que
X e Y son independientemente CH o N a condición de que al menos uno de X e Y debe ser CH;
R¹ es un grupo C(O)OR⁴ en el que R⁴ es alquilo C₁₋₃ o cicloalquilo C₁₋₇; o
R¹ es un grupo seleccionado entre fenilo, piridilo, pirazinilo y pirimidinilo estando dichos grupos opcionalmente
25 sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₁₋₄ y CN;
R² es alquilo C₁₋₄;
R³ es alquilo C₁₋₄;
R⁵ es hidrógeno y R⁶ es alquilo C₁₋₄ sustituido con uno o más grupos hidroxilo o un grupo -NR⁷R⁸ en el que R⁷ y R⁸
30 son independientemente hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄; y
m es 0, 1 o 2.

En una realización la invención proporciona compuestos de fórmula (I) con estereoquímica relativa *cis* a través del anillo de tetrahydroquinolina con respecto a los sustituyentes en las posiciones 2 y 4 en el anillo. En una realización, el compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo es el enantiómero (2S, 4R).

5 En una realización X e Y son los dos CH. En una realización adicional X es CH e Y es N. En una realización adicional X es N e Y es CH.

En una realización R¹ es un grupo C(O)OR⁴ en el que R⁴ es isopropilo.

En una realización R¹ se selecciona entre

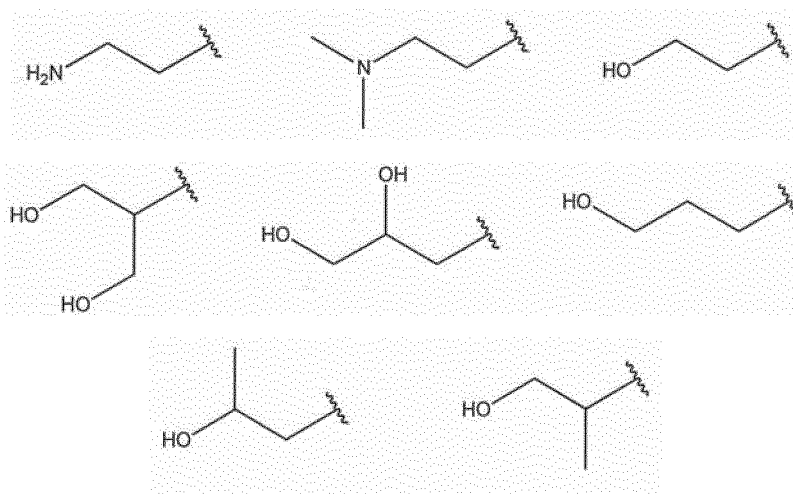


10 En una realización R² es metilo.

En una realización R³ es metilo.

En una realización m es 0. En una realización adicional m es 1. En una realización adicional m es 2.

En una realización R⁵ es hidrógeno y R⁶ se selecciona entre



15

Aunque las realizaciones para cada variable se han enumerado en general anteriormente por separado para cada variable, la presente invención pretende incluir todas las combinaciones de las realizaciones descritas anteriormente en el presente documento incluyendo las sales de los mismos.

20 Los compuestos de acuerdo con la invención incluyen los Ejemplos 1-68 como se describen en el presente documento. Los compuestos particulares de la invención incluyen:

25 2-(4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)fenil)-N-(2-(dimetilamino)etil)acetamida;
6-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida; y
6-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxiethyl)nicotinamida

o una sal de los mismos.

En toda la presente memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario:

- el término "halógeno" se utiliza para describir un grupo seleccionado entre flúor, cloro o bromo;
- las expresiones "alquilo C₁₋₃", "alquilo C₁₋₄" y "alquilo C₁₋₆" se utilizan para describir un grupo o una parte del grupo que comprende un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 3, de 1 a 4 o de 1 a 6 átomos de carbono respectivamente. Los ejemplos adecuados de dichos grupos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo y hexilo;
- la expresión "cicloalquilo C₃₋₇" se utiliza para describir un anillo carbocíclico no aromático que contiene al menos tres y como máximo siete átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo C₃₋₇ incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

Se apreciará que la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) en forma de la base libre y en forma de sales de los mismos, por ejemplo en forma de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En una realización la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Debido a su uso potencial en medicina, las sales de los compuestos de fórmula (I) son, deseablemente, farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácido o base. Como se utiliza en el presente documento, la expresión 'sal farmacéuticamente aceptable' significa cualquier sal o solvato farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención, que tras la administración al receptor es capaz de proporcionar (directa o indirectamente). Para una revisión de las sales adecuadas véase Berge y col., *J. Pharm. Sci.*, 66: 1-19, (1977). Normalmente, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse fácilmente utilizando un ácido o base deseado según sea apropiado. La sal resultante puede precipitar en la solución y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente.

Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable puede formarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (I) con un ácido inorgánico u orgánico adecuado (tal como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, succínico, maleico, acético, propiónico, fumárico, cítrico, tartárico, láctico, benzoico, salicílico, glutámico, aspártico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalenosulfónico tal como ácido 2-naftalenosulfónico o hexanoico), opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para proporcionar la sal que por lo general se aísla por ejemplo por cristalización y filtración. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o ser, por ejemplo, una sal de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, acetato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato) o hexanoato.

Otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos, oxalatos o trifluoroacetatos, pueden utilizarse, por ejemplo en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I) y se incluyen dentro del ámbito de la presente invención.

La invención incluye dentro de su ámbito todas las formas estequiométricas y no estequiométricas de las sales de los compuestos de fórmula (I).

Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o en los que precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Pueden utilizarse disolventes con altos puntos de ebullición y/o capaces de formar enlaces de hidrógeno tales como agua, xileno, N-metil pirrolidinona, metanol y etanol para formar solvatos. Los procedimientos para la identificación de solvatos incluyen, pero no se limitan a, RMN y microanálisis. Los solvatos de los compuestos de fórmula (I) están dentro del ámbito de la invención.

La invención incluye dentro de su ámbito todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de los solvatos de los compuestos de fórmula (I).

La invención abarca todos los profármacos del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tras la administración al receptor son capaces de proporcionar (directa o indirectamente) el compuesto de la invención o un metabolito activo o resto del mismo. Dichos derivados son reconocibles por los expertos en la materia, sin experimentación excesiva. Sin embargo, se hace referencia a los contenidos de *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 5ª Edición, Vol. 1: *Principles and Practice*, que se incorpora en el presente documento por referencia en la medida de enseñar dichos derivados.

Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma cristalina o amorfa. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de fórmula (I) pueden existir como polimorfos, que se incluyen dentro del ámbito de la presente invención. Las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) pueden caracterizarse y diferenciarse utilizando un número de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, pero no limitadas a, patrones de difracción de rayos X de polvo (DRXP), espectros de infrarrojo (IR), espectros Raman, calorimetría diferencial de barrido (CDB), análisis termogravimétrico (ATG) y resonancia magnética nuclear de estado sólido (RMNES).

Los compuestos descritos en el presente documento contienen átomos quirales de manera que pueden formarse isómeros ópticos, por ejemplo, enantiómeros o diastereoisómeros. En consecuencia, la presente invención abarca

todos los isómeros de los compuestos de fórmula (I) ya sea como isómeros individuales aislados tal como para estar sustancialmente libres del otro isómero (es decir, puros) o como mezclas (es decir, racematos y mezclas racémicas). Un isómero individual aislado tal como para estar sustancialmente libre del otro isómero (es decir, puro) puede aislarse de manera que esté presente menos del 10 %, en particular menos de aproximadamente el 1 %, por ejemplo menos de aproximadamente el 0,1 % del otro isómero.

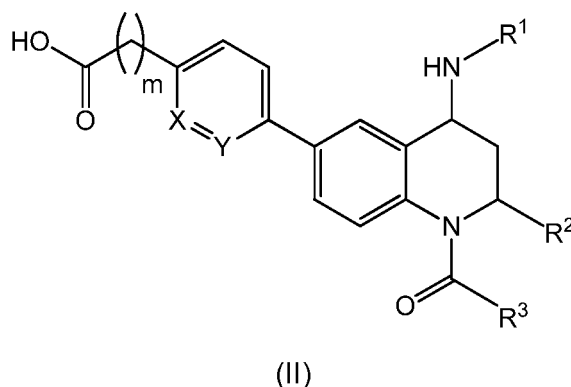
La separación de los isómeros puede conseguirse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia, por ejemplo mediante cristalización fraccionada, cromatografía o HPLC.

Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden existir en una sola de varias formas tautoméricas. Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) ya sea como tautómeros individuales o como mezclas de los mismos.

Se apreciará de lo anterior que dentro del ámbito de la invención se incluyen los solvatos, los isómeros y las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden fabricarse mediante una diversidad de procedimientos, incluyendo la química convencional. Cualquier variable previamente definida continuará teniendo el significado previamente definido a menos que se indique lo contrario. A continuación se exponen procedimientos de síntesis generales ilustrativos y después se preparan compuestos específicos de fórmula (I) o sales de los mismos en los Ejemplos de trabajo.

La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



en la que R^1 , R^2 , R^3 , X, Y y m son como se ha definido en la fórmula (I) con un compuesto de fórmula (III) o un derivado protegido del mismo



en la que R^5 y R^6 son como se ha definido en la fórmula (I).

La reacción de los compuestos de fórmula (I) y fórmula (II) puede realizarse en un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo DMF o acetonitrilo) con una amina (por ejemplo, DIPEA o trietilamina) en presencia de un agente activador adecuado (por ejemplo HATU o TBTU).

Los compuestos de fórmula (II) pueden prepararse mediante procedimientos descritos en el presente documento o mediante procedimientos análogos. Los compuestos de fórmula (III) están disponibles en el mercado o pueden prepararse mediante procedimientos descritos en el presente documento o mediante procedimientos análogos a ellos.

Se apreciará por los expertos en la materia que puede ser ventajoso proteger uno o más grupos funcionales de los compuestos descritos. Los ejemplos de grupos protectores y los medios para su retirada pueden encontrarse en "Protective Groups in Organic Synthesis" de T. W. Greene (4ª edición, J. Wiley and Sons, 2006). Los grupos protectores de aminas adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo, carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que pueden retirarse mediante hidrólisis (por ejemplo, utilizando un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de forma reductora (por ejemplo, la hidrogenólisis de un grupo bencilo o benciloxicarbonilo o la eliminación reductora de un 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo utilizando cinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de aminas adecuados incluyen trifluoroacetilo ($-COCF_3$) que puede retirarse mediante hidrólisis catalizada por bases.

Se apreciará que en cualquiera de las vías descritas anteriormente, el orden preciso de las etapas de síntesis mediante las que los diversos grupos y restos se introducen en la molécula puede variarse. Estará dentro de la experiencia del experto en la materia garantizar que los grupos o restos introducidos en una etapa del procedimiento no se vean afectados por transformaciones y reacciones posteriores, y seleccionar el orden de las etapas de síntesis en consecuencia.

Se cree que ciertos compuestos intermedios de fórmula (II) son nuevos y por tanto forman un aspecto adicional más de la invención.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos son inhibidores de bromodominio y por tanto se cree que tienen una utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia. El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede utilizarse en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cualesquiera enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

También se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

También se desvela un procedimiento de tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Convenientemente, el sujeto que lo necesita es un mamífero, en particular un ser humano.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que desencadenará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que está siendo buscada, por ejemplo, por un investigador o médico. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado el tratamiento mejorado, la curación, la prevención o la mejora de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución de la velocidad de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su ámbito cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

Se cree que los inhibidores de bromodominio son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades o afecciones relacionadas con la inflamación sistémica o tisular, las respuestas inflamatorias a la infección o a la hipoxia, la activación y proliferación celulares, el metabolismo lipídico, la fibrosis y en la prevención y el tratamiento de infecciones virales.

Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones crónicas autoinmunes e inflamatorias tales como la artritis reumatoide, la osteoartritis, la gota aguda, la psoriasis, el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis múltiple, la enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la neumonitis, la miocarditis, la pericarditis, la miositis, el eccema, la dermatitis (incluyendo la dermatitis atópica), la alopecia, el vitiligo, las enfermedades cutáneas ampollares, la nefritis, la vasculitis, la aterosclerosis, la enfermedad de Alzheimer, la depresión, el síndrome de Sjögren, la sialoadenitis, la oclusión venosa retiniana central, la oclusión venosa retiniana ramificada, el síndrome de Irvine-Gass (postcataratas y postquirúrgico), la retinitis pigmentosa, la pars planitis, la retinocoroidopatía en perdigonada, la membrana epirretiniana, el edema macular quístico, las telangiectasias parafoveales, las maculopatías por tracción, los síndromes de tracción vitromacular, el desprendimiento de retina, la neurorretinitis, el edema macular idiopático, la retinitis, el ojo seco (queratoconjuntivitis seca), la queratoconjuntivitis primaveral, la queratoconjuntivitis atópica, la uveítis anterior, la panuveítis, la uveítis posterior, el edema macular asociado a la uveítis, la escleritis, la retinopatía diabética, el edema macular diabético, la distrofia macular relacionada con la edad, la hepatitis, la pancreatitis, la cirrosis biliar primaria, la colangitis esclerosante, la enfermedad de Addison, la hipofisitis, la tiroiditis, la diabetes de tipo I y el rechazo agudo de órganos trasplantados.

Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones inflamatorias agudas tales como la gota aguda, la arteritis de células gigantes, la nefritis incluyendo la nefritis por lupus, la vasculitis con afectación de órganos tal como la glomerulonefritis, la vasculitis incluyendo la arteritis de células gigantes, la granulomatosis de Wegener, la poliarteritis nodosa, la enfermedad de Behcet, la enfermedad de Kawasaki, la Arteritis de Takayasu, la piodermia gangrenosa, la vasculitis con afectación de órganos y el rechazo agudo de órganos trasplantados.

- Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de enfermedades o afecciones que involucren respuestas inflamatorias a infecciones por bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas, tales como la sepsis, el síndrome séptico, el choque séptico, la endotoxemia, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), el síndrome de disfunción multiorgánica, el síndrome de choque tóxico, la lesión pulmonar aguda,
- 5 el SDA (síndrome disneico del adulto), la insuficiencia renal aguda, la hepatitis fulminante, las quemaduras, la pancreatitis aguda, los síndromes post-quirúrgicos, la sarcoidosis, las reacciones de Herxheimer, la encefalitis, la mielitis, la meningitis, la malaria y el SRIS asociado a infecciones virales tales como la gripe, el herpes zoster, el herpes simple y el coronavirus.
- Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de afecciones asociadas a la lesión por isquemia-reperfusión tales como el infarto de miocardio, la isquemia cerebrovascular (ictus), el síndrome coronario agudo, la lesión por reperfusión renal, el trasplante de órganos, el injerto de derivación de la arteria coronaria, los procedimientos de derivación cardiopulmonar, la embolia pulmonar, renal, hepática, gastrointestinal o de extremidades periféricas.
- 10 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos del metabolismo lipídico a través de la regulación de la APO-A1, tales como la hipercolesterolemia, la aterosclerosis y la enfermedad de Alzheimer.
- Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones fibróticas tales como la fibrosis pulmonar idiopática, la fibrosis renal, la estenosis post-operatoria, la formación de queloides, la esclerodermia (incluyendo la morfea) y la fibrosis cardíaca.
- 15 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en la prevención y el tratamiento de infecciones virales tales como el virus del herpes, el virus del papiloma humano, el adenovirus y el poxvirus y otros virus de ADN.
- Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, incluyendo el hemático (tal como la leucemia, el linfoma y el mieloma múltiple), el epitelial (incluyendo los carcinomas de pulmón, de mama y de colon), los carcinomas de la línea media, los tumores mesenquimales, hepáticos, renales y neurológicos.
- 20 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de patologías cutáneas tales como el melanoma no maligno (la queratosis actínica y de células basales), el melanoma *in situ*, el carcinoma de células escamosas y el linfoma cutáneo de linfocitos T.
- 25 En una realización la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona entre enfermedades asociadas al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, tales como la sepsis, las quemaduras, la pancreatitis, el traumatismo mayor, la hemorragia y la isquemia. En esta realización, el inhibidor de bromodominio se administraría en el punto de diagnóstico para reducir la incidencia de: SRIS, la aparición del choque, el síndrome de disfunción multiorgánica, que incluye la aparición de la lesión pulmonar aguda, el SDA, la lesión renal aguda, hepática, cardíaca y gastrointestinal y la mortalidad. En otra realización, el inhibidor de bromodominio se administraría antes de procedimientos quirúrgicos u otros asociados a un alto riesgo de sepsis, hemorragia, daño tisular extenso, SRIS o SMO (síndrome de disfunción de múltiples órganos). En una realización particular la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio es la sepsis, el síndrome de sepsis, el choque séptico o la endotoxemia. En otra realización, el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de la pancreatitis aguda o crónica. En otra realización el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de quemaduras.
- 30 En una realización la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona entre las infecciones por herpes simple y sus reactivaciones, el herpes labial, las infecciones por herpes zóster y sus reactivaciones, la varicela, las culebrillas, el virus del papiloma humano, el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la neoplasia del cuello uterino, las infecciones por adenovirus, incluyendo las enfermedades respiratorias agudas, las infecciones por poxvirus tales como la viruela vacuna y la viruela y el virus de la peste porcina africana. En una realización particular un inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de infecciones cutáneas o del epitelio del cuello uterino por virus del papiloma humano.
- 35 En una realización la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona entre las infecciones por herpes simple y sus reactivaciones, el herpes labial, las infecciones por herpes zóster y sus reactivaciones, la varicela, las culebrillas, el virus del papiloma humano, el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la neoplasia del cuello uterino, las infecciones por adenovirus, incluyendo las enfermedades respiratorias agudas, las infecciones por poxvirus tales como la viruela vacuna y la viruela y el virus de la peste porcina africana. En una realización particular un inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de infecciones cutáneas o del epitelio del cuello uterino por virus del papiloma humano.
- 40 La expresión "enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio", pretende incluir cualquiera o todas las patologías anteriores.
- En una realización, se proporciona un procedimiento para inhibir un bromodominio que comprende poner en contacto el bromodominio con un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 45 Aunque es posible que para su uso en terapia, un compuesto de fórmula (I) así como las sales farmacéuticamente aceptables del mismo puedan administrarse como el producto químico en bruto, es habitual presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica.
- 50 La presente invención proporciona por tanto en un aspecto adicional, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son como se han descrito anteriormente. El vehículo o vehículos, diluyente o diluyentes, o excipiente
- 55

o excipientes deben ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para el receptor de la misma. De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede ser para su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones descritas en el presente documento.

Dado que los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos están destinados para su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que se proporciona cada uno preferentemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, con una pureza de al menos el 60 %, más convenientemente con una pureza de al menos el 75 % y preferentemente con una pureza de al menos el 85 %, especialmente con una pureza de al menos el 98 % (% en peso por peso).

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosificación unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Por tanto, dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria (para la administración más de una vez al día), como se ha indicado anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo.

Las composiciones farmacéuticas pueden adaptarse para la administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral (incluyendo la bucal o la sublingual), rectal, por inhalación, intranasal, tópica (incluyendo la bucal, la sublingual o la transdérmica), ocular (incluyendo la tópica, la intraocular, la subconjuntival, la epiesclerótica o la subtenoniana), vaginal o parenteral (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones pueden prepararse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo, poniendo en asociación el ingrediente activo con el vehículo o los vehículos o el excipiente o los excipientes.

En una realización la composición farmacéutica está adaptada para la administración parenteral, en particular para la administración intravenosa.

En una realización la composición farmacéutica está adaptada para la administración oral.

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración tópica.

Una forma de dosificación preferida que da como resultado la oclusión y la modificación de la penetración de la piel, ya sea para aumentar o para disminuir la exposición sistémica de los compuestos de bromodominio, incluyendo pero no limitada a las formas farmacéuticamente aceptables de carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen las soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que convierten la composición en isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensores y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o de múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado de secado por congelación (liofilizado) que requiere solamente 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.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden presentarse como unidades individuales tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite-en-agua o emulsiones líquidas de agua-en-aceite.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente farmacológico activo puede combinarse con un vehículo inerte, oral, atóxico, farmacéuticamente aceptable tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos adecuados para su incorporación en comprimidos o cápsulas pueden prepararse reduciendo el compuesto a un tamaño fino adecuado (por ejemplo, mediante micronización) y mezclándolo con un vehículo farmacéutico preparado de forma similar tal como un hidrato de carbono comestible, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

Las cápsulas pueden fabricarse preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito anteriormente, y llenando vainas de gelatina formadas. Pueden añadirse deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla de polvo antes de la operación de llenado. También puede añadirse un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

- Además, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse aglutinantes, deslizantes, lubricantes, agentes edulcorantes, aromatizantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados en la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o precomprimiendo, añadiendo un lubricante y disgregante y comprimiendo en comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara mezclando el compuesto, adecuadamente triturado, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente y, opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de la disolución tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humectándola con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábica o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de una malla. Como alternativa a la granulación, la mezcla en polvo puede hacerse pasar por la máquina de comprimir y el resultado son lingotes formados imperfectamente, rotos en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para evitar que se peguen a los troqueles formadores de comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite de vaselina. Después, la mezcla lubricada se comprime en comprimidos. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden combinarse con un vehículo inerte líquido y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o precompresión. Puede proporcionarse un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un recubrimiento de sellado de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento de pulido de cera. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.
- Pueden prepararse fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires en una forma de dosificación unitaria de manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico atóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto en un vehículo atóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.
- Cuando sea apropiado, las composiciones de dosificación unitarias para la administración oral pueden microencapsularse. La formulación también puede prepararse para prolongar o mantener la liberación por ejemplo recubriendo o embebiendo material particulado en polímeros, cera o similares.
- Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden administrarse en forma de sistemas de entrega liposomales, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.
- Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Dichas composiciones farmacéuticas pueden incluir aditivos convencionales incluyendo, pero no limitados a, conservantes, disolventes para ayudar a la penetración del fármaco, cosolventes, emolientes, propulsores, agentes modificadores de la viscosidad (agentes gelificantes), tensioactivos y vehículos. En una realización, se proporciona una composición farmacéutica adaptada para administración tópica que comprende entre el 0,01-10 % o entre el 0,01-1 % del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la composición.
- Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las composiciones se aplican preferentemente en forma de una solución, suspensión, emulsión, pomada, crema, gel, pulverización o espuma tópicos. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo puede emplearse con una base de pomada ya sea parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el ingrediente activo puede formularse en una crema con una base de crema aceite-en-agua o una base agua-en-aceite. Cuando se formula en una pomada, el agente activo puede formularse con propulsores, tensioactivos, disolventes, cosolventes y agentes modificadores de la viscosidad.
- Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas al ojo incluyen colirios en los que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso. Las composiciones que se administran al ojo tendrán un pH y una osmolalidad oftálmicamente compatibles. Pueden incluirse uno o más agentes de ajuste y/o agentes tamponantes del pH oftálmicamente aceptables en una composición de la invención, incluyendo ácidos tales como ácido acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio y lactato de sodio; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato sodio y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y tampones pueden incluirse en una cantidad necesaria para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. Pueden incluirse una o más sales oftálmicamente aceptables en la composición en una cantidad suficiente para llevar la osmolalidad de la composición a un intervalo oftálmicamente aceptable.

Dichas sales incluyen las que tienen sodio, potasio o cationes de amonio y cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o aniones bisulfito.

Un dispositivo de entrega ocular puede diseñarse para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con velocidades de liberación y cinética de dosis sostenida y permeabilidad múltiples definidas. La liberación controlada puede obtenerse mediante el diseño de matrices poliméricas que incorporan diferentes opciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo, acetato de poli(etilen vinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), policaprolactona, ácido poli(glicólico), ácido poli(láctico), polianhídrido, de pesos moleculares de los polímeros, cristalinidad de los polímeros, relaciones de los copolímeros, condiciones de procesamiento, acabado de superficie, geometría, adición de excipientes y recubrimientos poliméricos que potenciarán la difusión, erosión, disolución y ósmosis del fármaco.

Las composiciones farmacéuticas para la entrega ocular incluyen también una composición acuosa gelificable in situ. Una composición de este tipo comprende un agente gelificante en una concentración eficaz para promover la gelificación tras el contacto con el ojo o con el fluido lacrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen, pero no se limitan a los polímeros termoestables. La expresión "gelificable in situ" como se utiliza en el presente documento incluye no solamente líquidos de baja viscosidad que forman geles tras el contacto con el ojo o con el fluido lacrimal, sino que también incluye líquidos más viscosos tales como semifluidos y geles tixotrópicos que presentan un aumento sustancial de la viscosidad o la rigidez del gel tras la administración al ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 3;57:1595-639, incorporado en el presente documento por referencia para los fines de sus contenidos de ejemplos de polímeros para su uso en la entrega de fármacos oculares.

Las formas de dosificación para la administración nasal o por inhalación pueden formularse convenientemente en forma de aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

Para composiciones adecuadas y/o adaptadas para la administración por inhalación, se prefiere que el compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo estén en una forma de tamaño de partícula reducido por ejemplo, obtenida mediante micronización. El tamaño de partícula de preferencia del compuesto o la sal de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) se define por un valor de D50 de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (que por ejemplo se mide utilizando difracción de láser).

Las formulaciones de aerosol, por ejemplo para la administración por inhalación, pueden comprender una solución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones en aerosol pueden presentarse en cantidades individuales o de múltiples dosis en forma estéril en un recipiente sellado, que puede tomar la forma de un cartucho o recambio para su uso con un dispositivo o inhalador atomizador. Como alternativa, el recipiente sellado puede ser un dispositivo de dosificación unitaria tal como un inhalador nasal de una sola dosis o un dosificador de aerosol equipado con una válvula dosificadora (inhalador de dosis dosificada) que está destinado a desecharse una vez que los contenidos del recipiente se hayan agotado.

Cuando la forma de dosificación comprende un dosificador de aerosol, éste contiene preferentemente un propulsor adecuado a presión tal como aire comprimido, dióxido de carbono o un propulsor orgánico tal como un hidrofluorocarbono (HFC). Los propulsores de HFC adecuados incluyen 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano. Las formas de dosificación en aerosol también pueden tomar la forma de un atomizador de bomba. El aerosol presurizado puede contener una solución o una suspensión del compuesto activo. Esto puede requerir la incorporación de excipientes adicionales, por ejemplo, cosolventes y/o tensioactivos para mejorar las características de dispersión y la homogeneidad de las formulaciones en suspensión. Las formulaciones en solución también pueden requerir la adición de cosolventes tales como etanol.

Para composiciones farmacéuticas adecuadas y/o adaptadas para la administración por inhalación, la composición farmacéutica puede ser una composición inhalable de polvo seco. Una composición de este tipo puede comprender una base de polvo tal como lactosa, glucosa, trehalosa, manitol o almidón, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (preferentemente en una forma de tamaño de partícula reducido, por ejemplo, en forma micronizada), y opcionalmente un modificador del rendimiento tal como L-leucina u otro aminoácido y/o sales de metales de ácido esteárico tales como estearato de magnesio o calcio. Preferentemente, la composición inhalable de polvo seco comprende una mezcla de polvo seco de lactosa, por ejemplo, monohidrato de lactosa, y el compuesto de fórmula (I) o la sal del mismo. Dichas composiciones pueden administrarse al paciente utilizando un dispositivo adecuado, tal como el dispositivo DISKUS®, comercializado por GlaxoSmithKline, que se describe por ejemplo en el documento GB 2242134 A.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse como una formulación fluida para la entrega desde un dosificador de fluido, por ejemplo un dosificador de fluido que tiene una boquilla dosificadora o un orificio dosificador a través del cual se dosifica una dosis medida de la formulación fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bomba del dosificador de fluido. Dichos dosificadores de fluido están generalmente provistos de un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, siendo las dosis dosificables tras accionamientos secuenciales de la bomba. La boquilla u orificio de dosificación pueden estar configurados para la inserción en los orificios nasales del usuario para la dosificación

por pulverización de la formulación fluida en la cavidad nasal. Un dosificador de fluido del tipo mencionado anteriormente se describe e ilustra en el documento WO2005/044354A1.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dependerá de un número de factores que incluyen, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y en última instancia quedará a discreción del médico o veterinario. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para la administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 a 3000 mg, más preferentemente de 0,5 a 1000 mg, de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculados como la base libre. Cada unidad de dosificación para la administración nasal o por inhalación contiene preferentemente de 0,001 a 50 mg, más preferentemente de 0,01 a 5 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculado como la base libre.

Los compuestos farmacéuticamente aceptables de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos pueden administrarse en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg por día o de 0,5 a 1000 mg por día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 a 50 mg por día o de 0,01 a 5 mg por día, del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. Esta cantidad puede administrarse en una sola dosis por día o más, por lo general en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de subdosis por día, de manera que la dosis diaria total es la misma. Una cantidad eficaz de una sal del mismo, puede determinarse como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) en sí.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden por tanto la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el uso de al menos otro agente farmacéuticamente activo. Preferentemente, las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos otro agente farmacéuticamente activo. El compuesto o compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y el otro agente o agentes farmacéuticamente activos pueden administrarse juntos en una sola composición farmacéutica o por separado y, cuando se administran por separado esto puede ocurrir simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del compuesto o compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y el otro agente o agentes farmacéuticamente activos y los tiempos relativos de administración se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado. Por tanto, en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos otro agente farmacéuticamente activo.

Por tanto, en un aspecto, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden utilizarse en combinación con, o incluir, uno o más de otros agentes terapéuticos, por ejemplo seleccionados entre antibióticos, antivirales, glucocorticoesteroides, antagonistas muscarínicos, agonistas beta-2 y análogos de la vitamina D3. En un aspecto adicional un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la invención puede utilizarse en combinación con un agente terapéutico adicional que es adecuado para el tratamiento del cáncer.

Se apreciará que cuando el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en combinación con otros agentes terapéuticos normalmente administrados por la vía inhalatoria, intravenosa, oral o intranasal, la composición farmacéutica resultante puede administrarse por las mismas vías. Como alternativa, los componentes individuales de la composición pueden administrarse por vías diferentes.

Una realización de la invención abarca las combinaciones que comprenden uno o dos de otros agentes terapéuticos.

Será evidente para un experto en la materia que, cuando sea apropiado, el otro ingrediente o ingredientes terapéuticos pueden utilizarse en forma de sales, por ejemplo como sales de metales alcalinos o de aminos 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 la solubilidad, del ingrediente terapéutico. Será evidente también que, cuando sea apropiado, los ingredientes terapéuticos pueden utilizarse en forma ópticamente pura.

Las combinaciones referidas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en forma de una composición farmacéutica y, por tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, representan un aspecto adicional de la invención.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden prepararse mediante los procedimientos que se describen a continuación o mediante procedimientos similares. Por tanto, los siguientes Intermedios y Ejemplos sirven para ilustrar la preparación de los compuestos de fórmula (I) y las sales

farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Detalles experimentales generales

Todas las temperaturas mencionadas son en °C.

Los nombres de los siguientes compuestos se han obtenido utilizando el programa de nomenclatura de compuestos "ACD Name Pro 6.02" o Chem Draw Ultra 12.0.

Abreviaturas

- AcOH se refiere a ácido acético
 BINAP se refiere a 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo
 BOC se refiere a terc-butoxicarbonilo
 VC se refiere a volúmenes de columna
 DCM se refiere a diclorometano
 1,2-DCE se refiere a 1,2-dicloroetano
 DIPEA se refiere a diisopropiletilamina
 DMSO se refiere a dimetilsulfóxido.
 DMF se refiere a *N,N*-dimetilformamida
 Éter se refiere a éter dietílico
 Et₂O se refiere a éter dietílico
 EtOAc se refiere a acetato de etilo
 FMOC se refiere a 9-fluorenilmetoxycarbonilo
 HATU se refiere a hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio
 HPLC se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento
 IPA se refiere a propan-2-ol
i-Pr₂O se refiere a éter di-isopropílico
 LiAlH₄ se refiere a hidruro de litio y aluminio
 MDAP se refiere a Autopreparativa dirigida a masas que se refiere a HPLC preparativa dirigida a masas
 MeCN se refiere a acetonitrilo
 MeOH se refiere a metanol
 MgSO₄ se refiere a sulfato de magnesio
 Pf se refiere a punto de fusión
 t.a. se refiere a temperatura ambiente
 Tr se refiere al tiempo de retención
 Na₂SO₄ se refiere a sulfato de sodio
 TBTU se refiere a tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio
 TMEDA se refiere a tetrametiletilendiamina
 TFA se refiere a ácido trifluoroacético
 THF se refiere a tetrahidrofurano
 CCF se refiere a cromatografía de capa fina

Metodología de CLEM

Procedimiento de formiato (modificador de ácido fórmico)

Condiciones de CL

El análisis por UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm × 2,1 mm, diámetro de relleno de 1,7 µm) a 40 °C.

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	1	99	1
1,5	1	3	97
1,9	1	3	97
2,0	1	0	100

La detección por UV fue una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM : Waters ZQ
 Modo de ionización : electronebulización positiva y negativa de exploración alterna
 Intervalo de exploración : 100 a 1000 UMA
 Tiempo de exploración : 0,27 s
 Retardo entre exploraciones : 0,10 s

Procedimiento de HpH (modificador de bicarbonato de amonio)

5 Condiciones de CL

El análisis por UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm × 2,1 mm, diámetro de relleno de 1,7 µm) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

- 10 A = Carbonato ácido de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoníaco
 B = acetonitrilo

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	99	1
1,5	1	3	97
1,9	1	3	97
2,0	1	0	100

La detección por UV fue una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM : Waters ZQ
 Modo de ionización : electronebulización positiva y negativa de exploración alterna
 Intervalo de exploración : 100 a 1000 UMA
 Tiempo de exploración : 0,27 s
 Retardo entre exploraciones : 0,10 s

15

Metodología de MDAP

Procedimiento de formiato (modificador de ácido fórmico)

Condiciones de CL

- 20 El análisis por HPLC se realizó ya sea en una columna Sunfire C18 (d.i. de 100 mm × 19 mm, diámetro de relleno de 5 µm) o en una columna Sunfire C18 (d.i. de 150 mm × 30 mm, diámetro de relleno de 5 µm) a temperatura ambiente.

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

- 25 Se desarrolló como un gradiente a lo largo de 15 o 25 min (desarrollo extendido) con un caudal de 20 ml/min (d.i. de 100 mm × 19 mm, diámetro de relleno de 5 µm) o 40 ml/min (d.i. de 150 mm × 30 mm, diámetro de relleno de 5 µm).

La detección por UV fue una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM : Waters ZQ
 Modo de ionización : electronebulización positiva y negativa de exploración alterna
 Intervalo de exploración : 100 a 1000 UMA
 Tiempo de exploración : 0,50 s
 Retardo entre exploraciones : 0,20 s

Procedimiento de HpH (modificador de bicarbonato de amonio)Condiciones de CL

- 5 El análisis por HPLC se realizó ya sea en una columna Xbridge C18 (d.i. de 100 mm × 19 mm, diámetro de relleno de 5 µm) o en una columna Xbridge C18 (d.i. de 150 mm × 30 mm, diámetro de relleno de 5 µm) a temperatura ambiente.

Los disolventes empleados fueron:

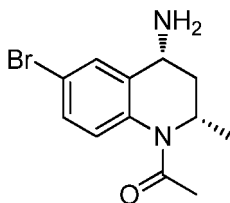
- 10 A = Bicarbonato de amonio 10 mM en agua, ajustado a pH 10 con solución de amoníaco
 B = acetonitrilo

Se desarrolló como un gradiente a lo largo de 15 o 25 min (desarrollo extendido) con un caudal de 20 ml/min (d.i. de 100 mm × 19 mm, diámetro de relleno de 5 µm) o 40 ml/min (d.i. de 100 mm × 30 mm, diámetro de relleno de 5 µm).

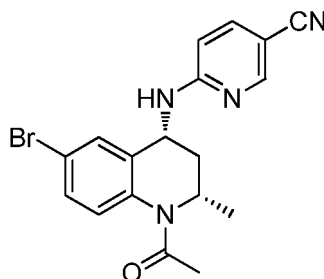
La detección por UV fue una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

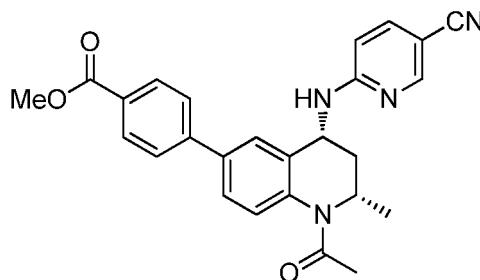
- 15 EM : Waters ZQ
 Modo de ionización : electronebulización positiva y negativa de exploración alterna
 Intervalo de exploración : 100 a 1000 UMA
 Tiempo de exploración : 0,50 s
 Retardo entre exploraciones : 0,20 s

Intermedio 1**1-((2S,4R)-4-Amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona**

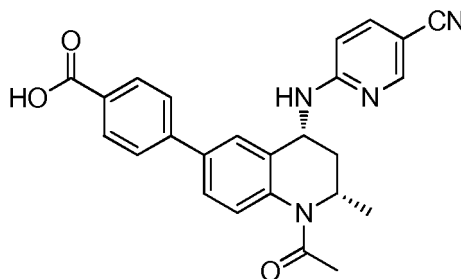
- 20 Una suspensión de cloruro de aluminio (41,2 g, 309 mmol) en DCM (480 ml) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno se trató con una solución de ((2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo (30 g, 81 mmol) en DCM (80 ml) mediante una cánula y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 30 min. La mezcla de reacción se trató lentamente con una mezcla de trietilamina (136 ml, 975 mmol) y MeOH (48 ml) mediante una cánula. La torta resultante formada se agitó en EtOAc (800 ml), se aisló por filtración y posteriormente se repartió entre DCM (800 ml) y solución acuosa saturada de NaHCO₃ (800 ml). Se añadió tartrato
- 25 de potasio y sodio (300 g) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 2 h. Las fases se separaron y la fase de DCM se filtró a través de un embudo sinterizado. El filtrado se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío para proporcionar una primera cosecha de 1-((2S,4R)-4-amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (19,6 g, 69,2 mmol, rendimiento del 85 %) en forma de una espuma de color amarillo. La fase acuosa se trató adicionalmente con DCM (800 ml) y la mezcla bifásica se agitó durante la noche. Después, las fases se separaron y
- 30 la fase orgánica se secó sobre (MgSO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar una segunda cosecha de 1-((2S,4R)-4-amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (3,4 g, 12,01 mmol, rendimiento del 14,78 %). CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,77 min, MH⁺ = 283 (1 Br).

Intermedio 2**6-(((2*S*,4*R*)-1-Acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo**

5 A una mezcla de 1-(((2*S*,4*R*)-4-amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 1) (2,28 g, 8,05 mmol) y 6-cloronicotinonitrilo (2,231 g, 16,10 mmol) se le añadió NMP (20 ml) y la mezcla se trató con DIPEA (4,22 ml, 24,16 mmol). La mezcla se divide entre 2 matraces y cada matraz se lavó abundantemente con nitrógeno, se selló y se agitó con irradiación de microondas a 200 °C durante 2 h. Las mezclas de reacción se combinaron y se repartieron entre agua y EtOAc. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (4 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 veces), después con salmuera y se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo sólido de color marrón se purificó mediante cromatografía (gradiente de EtOAc en hexanos) para proporcionar 6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (1,940 g, 5,04 mmol, rendimiento del 62,5 %) en forma de una espuma de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,02 min, MH⁺ = 386 (1 Br).

Intermedio 3**4-(((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo**

20 A un matraz cargado con 6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 2) (1,000 mg, 2,60 mmol), ácido (4-(metoxycarbonil)fenil)borónico (561 mg, 3,11 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (300 mg, 0,260 mmol) y carbonato de potasio (1,076 mg, 7,79 mmol) se le añadieron DME (20 ml) y agua (4,0 ml). La mezcla resultante se agitó a 100 °C en atmósfera de nitrógeno durante 1 h, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y agua y se separaron las fases. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 10 g, gradiente de MeOH/DCM) para proporcionar 4-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (1002 mg, 2,275 mmol, rendimiento del 88 %) en forma de una espuma de color naranja. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,09 min, MH⁺ = 441.

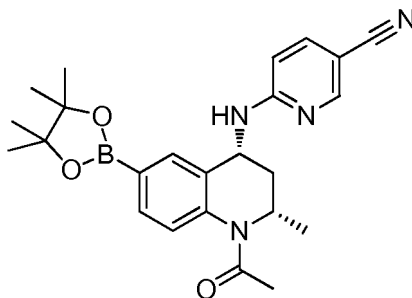
Intermedio 4**Ácido 4-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico**

30 Una solución de 4-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 3) (1,0 g, 2,270 mmol) en MeOH (15 ml) a temperatura ambiente

se trató con solución de hidróxido de sodio acuoso (2 N, 2,27 ml, 4,54 mmol) y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 h. El volumen de MeOH se evaporó al vacío y el residuo acuoso se trató con ácido acético (0,39 ml, 6,81 mmol) proporcionando un precipitado que se aisló por filtración y se secó al vacío a 40 °C para proporcionar ácido 4-(((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoico (820 mg, 1,923 mmol, rendimiento del 85 %) en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,64 min, MH⁺ = 427.

Intermedio 5

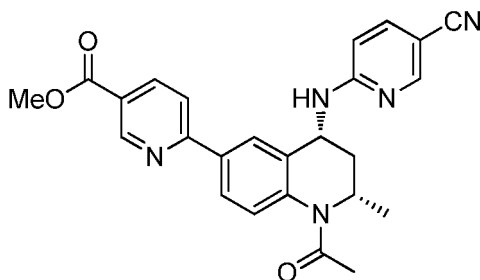
6-(((2S,4R)-1-Acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo



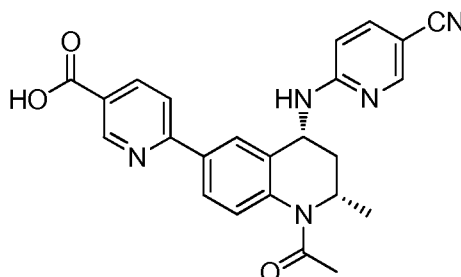
A un matraz cargado con 6-(((2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 2) (847 mg, 2,199 mmol), bis(pinacolato)diboro (1228 mg, 4,84 mmol), PdCl₂(dppf) (161 mg, 0,220 mmol) y acetato de potasio (324 mg, 3,30 mmol) se le añadió DMSO (7 ml), la mezcla se desgasificó en atmósfera de nitrógeno y se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 1 h a 80 °C. Se añadieron porciones adicionales de bis(pinacolato)diboro (1 g), PdCl₂(dppf) (100 mg) y acetato de potasio (150 mg) y la mezcla se agitó durante 45 min. Se añadieron porciones adicionales de bis(pinacolato)diboro (1 g), PdCl₂(dppf) (100 mg) y acetato de potasio (150 mg) y la mezcla se agitó durante 45 min la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se trató con EtOAc y agua. La mezcla bifásica se filtró a través de un lecho de Celite[™] (10 g) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (4 veces), después con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. La purificación del residuo mediante cromatografía [columna de 50 g, gradiente de EtOAc/hexanos] proporcionó 6-(((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (800 mg, 1,850 mmol, rendimiento del 84 %) en forma de una goma de color rojo. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,08 min, MH⁺ = 433.

Intermedio 6

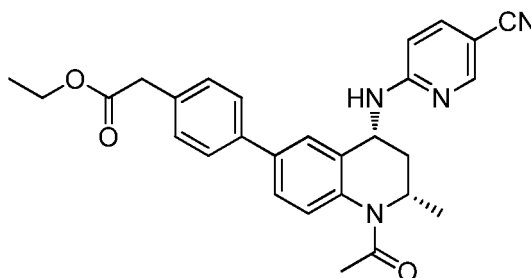
6-(((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)nicotinato de metilo



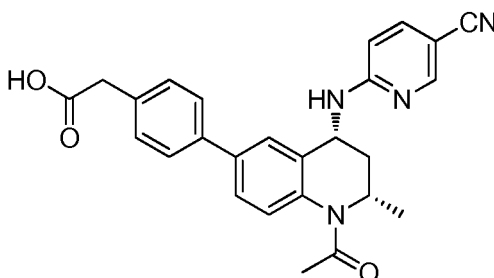
A un matraz cargado con 6-(((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 5) (800 mg, 1,850 mmol), 6-bromonicotinato de metilo (440 mg, 2,036 mmol), carbonato de potasio (767 mg, 5,55 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (214 mg, 0,185 mmol) se le añadieron tolueno (8 ml) y etanol (8 ml). La mezcla resultante se agitó a 90 °C en atmósfera de nitrógeno durante 3 h momento en que se añadieron porciones de carbonato de potasio (384 mg) tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (107 mg) y 6-bromonicotinato de metilo (220 mg) y la agitación de la mezcla de reacción continuó durante 5 h. La mezcla se enfrió después a la temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía [columna de 25 g, gradiente de EtOAc/Hexanos] para proporcionar 6-(((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (600 mg, 1,317 mmol, rendimiento del 71,2 %) en forma de una espuma de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,07 min, MH⁺ = 456.

Intermedio 7**Ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico**

Una solución de 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 6) (580 mg, 1,273 mmol) en etanol (10 ml) se trató con una solución de hidróxido de litio acuoso (1 N, 2,55 ml, 2,55 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 2 h. El volumen de etanol se evaporó al vacío y el residuo se diluyó con agua (aprox. 5 ml). La mezcla turbia se trató con ácido acético (0,146 ml, 2,55 mmol) y el precipitado formado se aisló por filtración, se lavó con Et₂O y se secó a 60 °C durante 16 h para proporcionar ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (410 mg, 0,959 mmol, rendimiento del 75 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,63 min, MH⁺ = 428.

Intermedio 8**2-(4-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acetato de etilo**

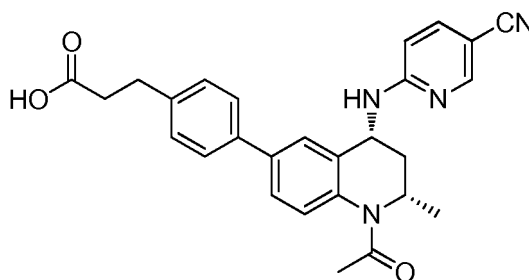
A una solución de 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 5) (1,67 g, 3,86 mmol), 2-(4-bromofenil)acetato de etilo (1,127 g, 4,64 mmol) y carbonato de potasio (1,602 g, 11,59 mmol) en tolueno (10 ml) y etanol (10,0 ml) se le añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,446 g, 0,386 mmol) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 1 h, después se repartió entre EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (25 g), eluyendo con un gradiente de EtOAc/ciclohexano (del 10 al 80 %). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acetato de etilo (752 mg, 42 %) en forma de un aceite incoloro viscoso. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,10 min, MH⁺ = 469.

Intermedio 9**Ácido 2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético, sal de litio**

A una solución de 2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acetato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 8) (300 mg, 0,640 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió una solución de hidróxido de litio (0,768 ml, 0,768 mmol). La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 2 h, después de lo cual se concentró al vacío para proporcionar el carboxilato de litio del ácido 2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético (286 mg, 100 %) en bruto en forma de un sólido de color blanco que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,10 min, MH⁺ = 433.

Intermedio 10

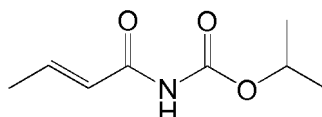
Ácido 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)propanoico



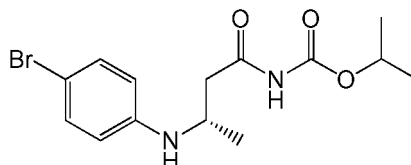
A una solución de 6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 5) (382 mg, 0,884 mmol) y ácido 3-(4-bromofenil)propanoico (243 mg, 1,060 mmol) en tolueno (6 ml) y etanol (6 ml) se le añadieron sucesivamente tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (102 mg, 0,088 mmol) y carbonato de potasio (366 mg, 2,65 mmol). La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 2 h, después se repartió entre agua y EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (25 g), eluyendo con EtOAc en ciclohexano (10-70 %). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ácido 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)propanoico (209 mg, 52 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,91 min, MH⁺ = 455.

Intermedio 11

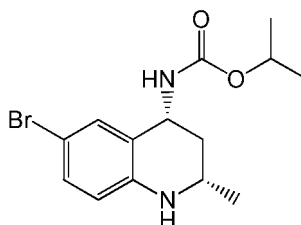
(2*E*)-2-Butenoilcarbamato de 1-metiletilo



Se cargó carbamato de isopropilo (30 g, 291 mmol, disponible de TCI) a un vaso Lara de 3 l y se añadió tetrahidrofurano (THF) (150 ml). Se añadió cloruro de (2*E*)-2-butenilo (31,2 ml, 326 mmol, disponible de Aldrich) en atmósfera de nitrógeno y la camisa se enfrió a -30 °C. Cuando la temperatura de la solución llegó a -17 °C se añadió terc-butoxido de litio (1 M, 655 ml, 655 mmol) mediante una bomba peristáltica durante 2 h, manteniendo la temperatura de reacción entre -10 °C y -18 °C. Una vez que la adición se había completado la mezcla se agitó durante 30 min y se llevó a 0 °C. Se añadieron éter dietílico (450 ml) y ácido clorhídrico (1 M, 375 ml) y la mezcla se llevó a 20 °C con agitación vigorosa. Se detuvo la agitación, se dejó que las fases se separaran y la fase acuosa se escurrió. Se añadió salmuera (375 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente. Se detuvo la agitación, se dejó que las fases se separaran y la fase acuosa se escurrió. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó a un aceite de color marrón (60 g). Se aplicó a una columna de sílice (40+M Biotage) y se eluyó con DCM/EtOAc (1:1 a 0:1, 10 VC). El producto que contenía las fracciones se evaporó a sequedad y se cargó en una columna de sílice Redisep Isco (1500 g) y se eluyó con un gradiente de EtOAc en ciclohexano (0-40 %). Las fracciones limpias, que contenían producto se evaporaron a un sólido de color blanquecino (15,41 g). CLEM (Procedimiento C): Tr = 0,68, MH⁺ = 172

Intermedio 12**{{(3S)-3-[(4-Bromofenil)amino]butanoil}carbamato de metiletilo**

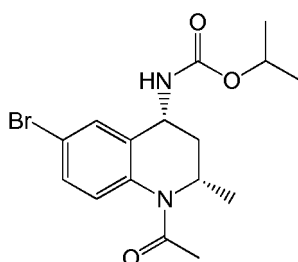
- 5 Se agitó (2E)-2-butenoilcarbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el Intermedio 11) (9,38 g, 54,8 mmol) en tolueno (281 ml) en atmósfera de nitrógeno y se añadió (R-BINAP) ditriflatobis(acetonitrilo)paladio(II) (para una preparación véase el intermedio 36) (3,35 g, 3,01 mmol). El catalizador formó una bola gomosa, la solución se convirtió en una mezcla de color amarillo opaco y se agitó durante 20 min. Se añadió 4-bromoanilina (14,14 g, 82 mmol), la solución se volvió de un color marrón claro transparente y el catalizador gomoso se disolvió adicionalmente. La mezcla se agitó durante 16 h. De forma similar, un segundo lote de (2E)-2-butenoilcarbamato de 1-metiletilo (Intermedio 11, 8,51 g, 49,7 mmol) se agitó en tolueno (255 ml) en atmósfera de nitrógeno y se añadió (R-BINAP) ditriflatobis(acetonitrilo)paladio (II) (3,04 g, 2,73 mmol). El catalizador formó una bola gomosa, la solución se convirtió en una mezcla de color amarillo opaco y se agitó durante 20 min. Se añadió 4-bromoanilina (12,83 g, 74,6 mmol), la solución se volvió de un color marrón claro transparente y el catalizador gomoso se disolvió adicionalmente. La mezcla se agitó durante 16 h.
- 15 Las dos mezclas de reacción se combinaron y se cargaron en una columna de sílice Redisep de Isco de 1,5 kg. La columna se eluyó con DCM/MeOH (0 % -> 0,5 %, 19 VC). Las fracciones limpias, que contenían producto se evaporaron a un aceite de color marrón pálido. La mezcla se secó en un horno de vacío durante la noche a 40 °C para proporcionar {{(3S)-3-[(4-Bromofenil)amino]butanoil}carbamato de metiletilo en forma de un sólido de color blanco (24,2 g, 67 % global).
- 20 CLEM (Procedimiento C): Tr = 0,91, MH+ = 343. ee = 92 %.

Intermedio 13**[(2S,4R)-6-Bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo**

- 25 Se recogió {{(3S)-3-[(4-bromofenil)amino]butanoil}carbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el Intermedio 12) (17,9 g, 52,2 mmol) en etanol (150 ml) y se enfriaron hasta por debajo de -10 °C (temperatura interna) en un baño de CO₂/acetona. Se añadió NaBH₄ (1,381 g, 36,5 mmol) seguido de cloruro de magnesio hexahidratado (11,35 g, 55,8 mmol) en agua (25 ml) manteniendo la temperatura por debajo de -5 °C. La mezcla se dejó en agitación a <0 °C durante 1 hora después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La suspensión espesa resultante se vertió en una mezcla de ácido cítrico (25,05 g, 130 mmol), HCl (1 M en agua, 205 ml, 205 mmol) y DCM (205 ml). La mezcla bifásica se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Las fases se separaron y la fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en forma de un sólido de color marrón claro (14,1 g). CLEM (procedimiento B): Tr = 1,13, MH+ = 327

Intermedio 14

- 35 **[(2S,4R)-1-Acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo**



Se recogió [(2*S*,4*R*)-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el intermedio 13) (14,1 g, 43,1 mmol) en DCM (400 ml) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se añadió piridina (10,46 ml, 129 mmol), después cloruro de acetilo (4,60 ml, 64,6 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, después se repartió entre EtOAc (2000 ml) y una solución saturada acuosa de

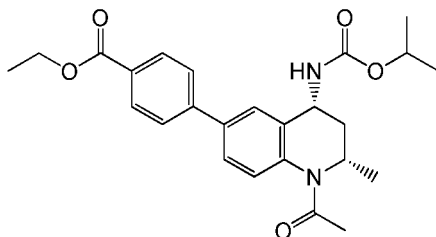
NaHCO₃ (800 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con agua y después con salmuera (1500 ml de cada uno) y después se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío para producir un sólido de color morado. El producto en bruto se recogió en el mínimo de DCM y se aplicó a una columna Companion XL de 330 g y se eluyó con un gradiente acetato de etilo al 12-63 % en ciclohexano para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanquecino (12,37 g).

CLEM (procedimiento B): Tr = 1,03, MH⁺ = 369

[alfa]D = +281,1025 ° (T = 20,7 °C, celda de 10 mm, c = 0,508 g/100 ml, etanol).

Intermedio 15

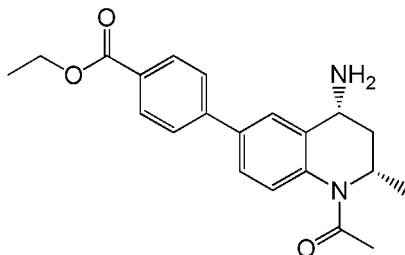
4-[(2*S*,4*R*)-1-Acetil-2-metil-4-({[(1-metiletil)oxi]carbonil}amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo



Se mezclaron [(2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el Intermedio 14), (39,0 g, 106 mmol), ácido {4-[(etiloxi)carbonil]fenil}borónico (22,5 g, 116 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (1,83 g, 1,58 mmol) se mezclaron en DME (430 ml) y la mezcla resultante se trató con solución acuosa de Na₂CO₃ (2 N, 210 ml, 420 mmol). La mezcla se desgasificó al vacío con varias inactivaciones con nitrógeno y después se agitó a 105 °C en atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 6 h antes de dejarse enfriar a temperatura ambiente. La mezcla se repartió entre EtOAc y agua y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera. Después, la fase orgánica se filtró a través de un cartucho de sílice de 70 g, el cartucho se lavó con EtOAc. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío. El residuo se trituroó con Et₂O después se filtró. El sólido obtenido se secó al aire para proporcionar 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-({[(1-metiletil)oxi]carbonil}amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 15) (35,2 g, 80,2 mmol, 76 %) en forma de un sólido de color gris. El filtrado se concentró al vacío y el residuo obtenido se trituroó con Et₂O (aproximadamente 30 ml). El sólido formado se aisló por filtración y se secó al aire para proporcionar 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-({[(1-metiletil)oxi]carbonil}amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo en forma de un sólido de color gris (5,96 g, 13,5 mmol, 13 %). CLEM (formiato, 2 min), tiempo de retención 1,16 min, MH⁺ = 439

Intermedio 16

4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo



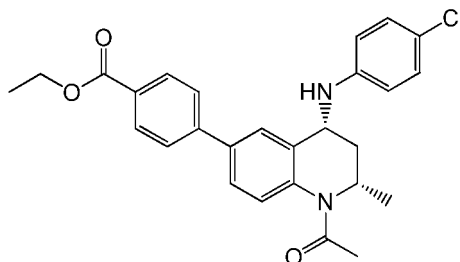
Se añadió 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-({[(1-metiletil)oxi]carbonil}amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 15) (8,90 g, 20,30 mmol) a una suspensión de cloruro de aluminio (10,3 g, 77 mmol) en DCM (160 ml) enfriado con un baño de hielo/agua. La temperatura se elevó desde 0 °C a aproximadamente 6 °C después de la adición. La mezcla resultante se agitó a aproximadamente 0 °C durante 20 min y después se trató con una solución de MeOH (18 ml) y trietilamina (34 ml, 245 mmol) durante -30 s. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante -30 min y después se repartió entre EtOAc y una solución acuosa saturada de NaHCO₃.

La misma reacción se realizó en paralelo, utilizando 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-({[(1-metiletil)oxi]carbonil}amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 15) (0,89 g, 2,030 mmol), cloruro de aluminio (1,03 g, 7,72 mmol), trietilamina (3,4 ml, 24,53 mmol), DCM (16 ml) y MeOH (1,3 ml). Los productos de ambas reacciones se combinaron en esta etapa y la mezcla resultante se

agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 min (volumen total: aproximadamente 1 l). La mezcla se filtró a través de Celite™, el residuo insoluble se lavó con EtOAc y una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (frita hidrófoba) y se concentraron al vacío para proporcionar 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (6,6 g, 84 % - permitiendo la adición del experimento paralelo) en forma de un sólido de color crema. CLEM (formiato, 2 min), tiempo de retención 0,73 min, [M-NH₂]⁺ = 336

Intermedio 17

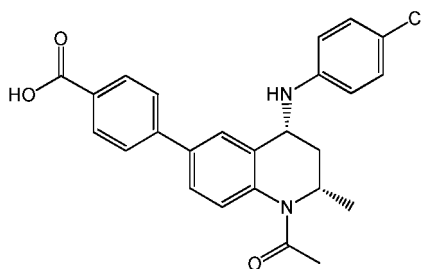
4-[(2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo



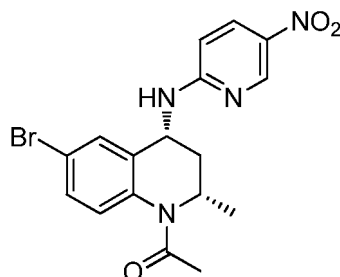
Se mezclaron 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 16) (6,6 g, 18,73 mmol), 1-bromo-4-clorobenceno (3,94 g, 20,60 mmol), bis(dibencilidenacetona)paladio (0) (690 mg, 1,2 mmol) y [2'-(diciclohexilfosfanil)-2-bifenilil]dimetilamina (Dave-phos) (590 mg, 1,499 mmol) en tolueno (120 ml) y la mezcla resultante se trató con t-butoxido de sodio (2,52 g, 26,2 mmol). La reacción se desgasificó al vacío con varias inactivaciones con nitrógeno, se calentó a 70 °C en atmósfera de nitrógeno durante 16 h, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró. El residuo insoluble se lavó con tolueno y después Et₂O. El filtrado y los lavados combinados se lavaron con agua (2 veces) y después se extrajeron con ácido clorhídrico (2 N, 20 veces, dando como resultado la precipitación de un aceite de color naranja que se recogió con las fases ácidas acuosas. Los extractos ácidos se lavaron con Et₂O y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (frita hidrófoba) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre un cartucho de sílice (330 g), eluyendo con un gradiente de EtOAc/ciclohexano (5-45 %). Las fracciones apropiadas se combinaron y se redujeron a sequedad al vacío para proporcionar una espuma de color amarillo pálido. Esta espuma se disolvió en EtOAc (50 ml) y se trató con sílice de tiourea funcional (0,56 g, neutralizador de paladio). La mezcla se agitó a temperatura ambiente (atmósfera de aire) durante -20 min y después se dejó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se filtró y los residuos insolubles se lavaron con EtOAc. El filtrado combinado y los lavados se concentraron al vacío para proporcionar 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (3,7 g, 8,0 mmol, 32 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Intermedio 18

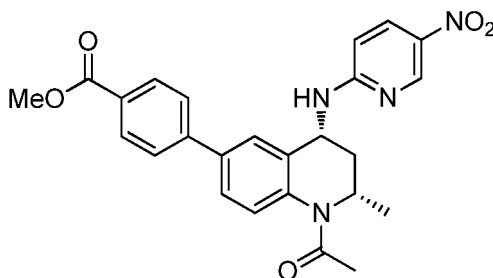
Ácido 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoico



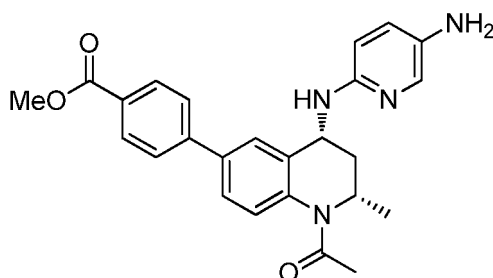
Se disolvió 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 17) (5,41 g, 11,69 mmol) en etanol (100 ml) y la solución se trató con solución acuosa de NaOH (2 M, 50 ml, 100 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente (atmósfera de aire) durante aproximadamente 2 h, después la mayor parte del etanol se retiró al vacío. La solución de color amarillo resultante se diluyó con agua (dando como resultado la formación de un precipitado aceitoso de color amarillo). La fase acuosa se lavó dos veces con DCM (que no disolvió el precipitado formado previamente) y después se acidificó con ácido clorhídrico (2 N) a pH 1 y se extrajo con EtOAc (2 veces). Las fases de EtOAc combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (frita hidrófoba) y se concentraron al vacío. La espuma de color amarillo residual se trituroó con Et₂O durante aproximadamente 1 h. El sólido resultante se aisló por filtración, se lavó con Et₂O y se secó al aire para proporcionar Ácido 4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]benzoico (4,41 g, 10,1 mmol, 87 %) en forma de un sólido de color crema. CLEM (HpH), Tiempo de retención 1,08 min, [MH]⁻ = 433

Intermedio 19**1-((2S,4R)-6-Bromo-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona**

5 A un matraz cargado con 1-((2S,4R)-4-amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 1) (2 g, 7,06 mmol) y 2-cloro-5-nitropiridina (2,240 g, 14,13 mmol) se añadió NMP (10 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (3,70 ml, 21,19 mmol). La mezcla se dividió entre 2 matraces, cada matraz se lavó con nitrógeno, se selló y la mezcla se agitó con irradiación de microondas a 200 °C durante 2 h. Las 2 mezclas de reacción se combinaron, se diluyeron con agua y se extrajeron con EtOAc (4 veces). Las fases combinadas de EtOAc se lavaron con agua (3 veces) y después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El sólido residual de color marrón se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexanos, lo que proporcionó 1-((2S,4R)-6-bromo-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (4,6 g, 11,35 mmol, rendimiento del 161 %) en forma de una espuma de color marrón pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,08 min, MH⁺ = 405/407 (doblete).

Intermedio 20**4-((2S,4R)-1-Acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo**

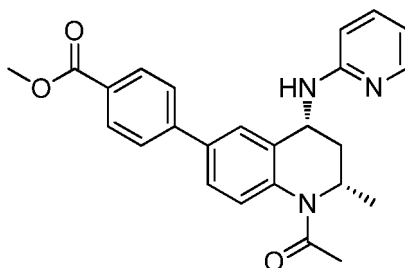
20 A un matraz cargado con ácido (2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-N-(5-nitro-2-piridinil)-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinamina (para una preparación véase el Intermedio 19) (4,1 g, 10,12 mmol), ácido {4-[(metiloxi)carbonil]fenil}borónico (2,185 g, 12,14 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (1,169 g, 1,012 mmol) y carbonato de potasio (4,19 g, 30,4 mmol) se le añadieron DME (50 ml) y agua (10,0 ml) y la mezcla resultante se agitó a 100 °C en atmósfera de nitrógeno durante 1 h, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y agua y se separaron las fases. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexanos, lo que proporcionó 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (4,3 g, 9,34 mmol, rendimiento del 92 %) en forma de una espuma de color naranja, CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,13 min, MH⁺ = 461.

Intermedio 21**4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo**

A un matraz cargado con 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 20) (2,43 g, 5,28 mmol), formiato de amonio (3,33 g, 52,8 mmol) y paladio sobre carbono (0,562 g, 5,28 mmol) se le añadió MeOH (50 ml) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 30 min. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de Celite™ y el residuo se lavó con MeOH y después DMF. El filtrado metanólico y los lavados se combinaron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (2,0 g, 4,65 mmol, rendimiento del 88 %) en forma de una espuma de color rosa oscuro. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,94 min, MH⁺ = 431.

Intermedio 22

4-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo

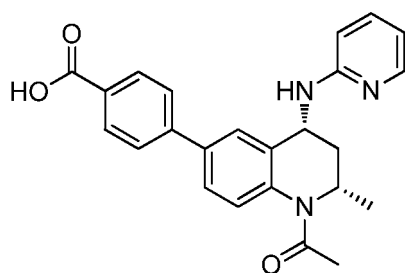


Una solución de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 21) (1,04 g, 2,416 mmol) en etanol (20 ml) a temperatura ambiente se trató con nitrito de isoamilo (0,813 ml, 6,04 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 2 h a reflujo y después se enfrió a temperatura ambiente. El volumen del disolvente se retiró al vacío. El residuo se trató con EtOAc y salmuera y las dos fases se pasaron a través de 10 G de Celite™, después se separaron. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío.

El residuo se purificó mediante cromatografía, eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM, que proporcionó 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (720 mg, 1,733 mmol, rendimiento del 71,7 %) en forma de una espuma de color rosa claro. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,10 min, MH⁺ = 416.

Intermedio 23

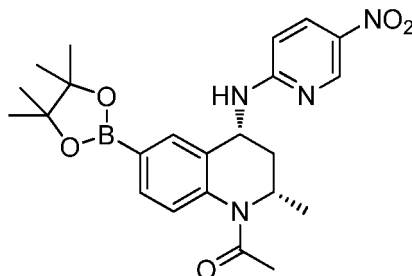
Ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico



Se disolvió 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 22) (700 mg, 1,685 mmol) en MeOH (10 ml) y se añadió solución de hidróxido de sodio (2 M, 1,68 ml, 3,37 mmol). Después de 6,5 h se añadieron 2 equivalentes adicionales de hidróxido de sodio (2 M, 1,685 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se concentró y el residuo se diluyó con agua. Se añadió ácido clorhídrico (2 N, 1 ml) formando un precipitado que se aisló por filtración y se secó para proporcionar ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (500 mg, 1,245 mmol, rendimiento del 73,9 %) en forma de un sólido de color rosado. La fase acuosa se extrajo EtOAc (3 veces) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ después se concentraron al vacío para proporcionar un lote adicional de ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (140 mg, 0,349 mmol, rendimiento del 20,70 %) en forma de una espuma de color amarillo. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,62 min, MH⁺ = 402.

Intermedio 24

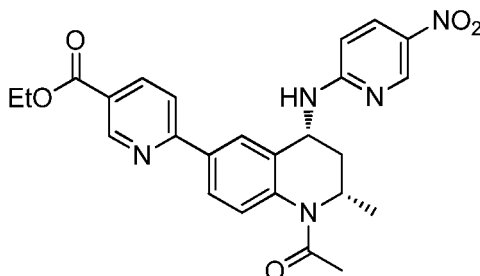
1-((2*S*,4*R*)-2-Metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona



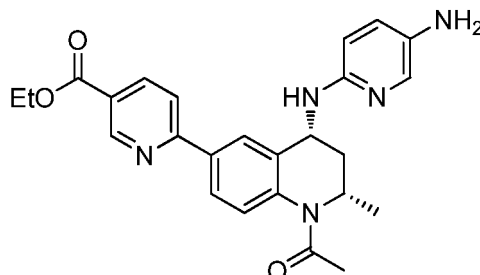
- 5 A un matraz cargado con 1-((2*S*,4*R*)-6-bromo-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 19) (1,17 g, 2,89 mmol), bis(pinacolato)diboro (1,613 g, 6,35 mmol), PdCl₂(dppf) (0,211 g, 0,289 mmol) y acetato de potasio (0,425 g, 4,33 mmol) se le añadió DMSO (10 ml). La mezcla de reacción se desgasificó (al vacío durante 10 min con varias inactivaciones con nitrógeno) y se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 1,5 horas a 80 °C. La reacción se enfrió a temperatura ambiente durante 2 h
10 y se diluyó con EtOAc y agua. La mezcla bifásica se filtró a través de un lecho de Celite™ (10 g) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (4 veces) y después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexanos; que proporcionó 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (1,03 g, 2,277 mmol, rendimiento del 79 %) en forma de una espuma de color marrón claro. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,15 min, MH⁺ = 453.

Intermedio 25

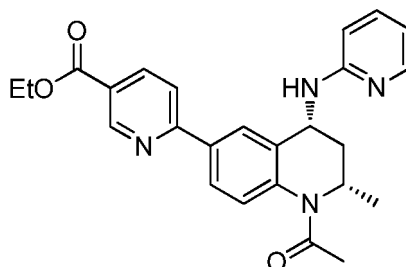
6-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo



- 20 A un matraz cargado con 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 24) (1,03 g, 2,277 mmol), 6-bromonicotinato de metilo (0,541 g, 2,505 mmol), carbonato de potasio (0,944 g, 6,83 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,263 g, 0,228 mmol) se le añadió una mezcla previamente desgasificada de tolueno (10 ml) y etanol (10 ml). La mezcla resultante se agitó a 90 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de 3 h,
25 se añadieron porciones adicionales de 6-bromonicotinato de metilo (0,271 g, 1,252 mmol), carbonato de potasio (0,472 g, 3,42 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,132 g, 0,114 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante otras 4 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo en bruto se repartió entre EtOAc y agua, se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. La purificación del
30 residuo mediante cromatografía, eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexanos proporcionó 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (740 mg, 1,556 mmol, rendimiento del 68,3 %) en forma de una espuma de color amarillo. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,15 min, MH⁺ = 476.

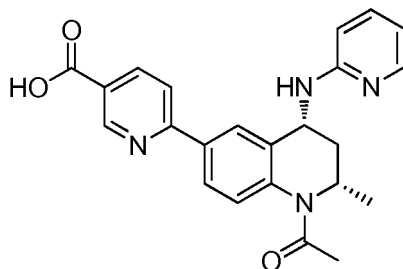
Intermedio 26**6-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo**

A un matraz cargado con 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 25) (780 mg, 1,640 mmol), formiato de amonio (1,034 mg, 16,40 mmol) y paladio sobre carbono (Pd al 10 %/C) (160 mg, 1,503 mmol) se le añadió etanol (15 ml) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 45 min. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de Celite™, el residuo se lavó con EtOH y el filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM; que proporcionó 6-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (450 mg, 1,010 mmol, rendimiento del 61,6 %) en forma de una espuma de color rosa. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,93 min, MH⁺ = 446.

Intermedio 27**6-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo**

Una solución de 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-aminopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 26) (450 mg, 1,010 mmol) en etanol (10 ml) a temperatura ambiente se trató con nitrito de isoamilo (0,34 ml, 2,53 mmol) y la mezcla resultante se agitó 1 h a reflujo, después se enfrió a temperatura ambiente. El volumen del disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con EtOAc y salmuera y las dos fases se filtraron a través de Celite™ (10 g) después se separaron. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío.

El residuo se purificó por cromatografía, eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM; que proporcionó 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (240 mg, 0,557 mmol, rendimiento del 55,2 %) en forma de una espuma de color rosa claro. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,09 min, MH⁺ = 431.

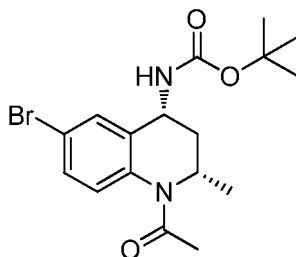
Intermedio 28**Ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico**

Una solución de 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 27) (240 mg, 0,557 mmol) en etanol (5 ml) se trató con hidróxido de litio acuoso (1 N, 1,115 ml, 1,115 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 h la mayor parte

del etanol se retiró al vacío, el residuo se diluyó con agua (aprox. 2 ml) y la mezcla "turbia" se trató con ácido acético (0,064 ml, 1,115 mmol). El precipitado formado se aisló por filtración, se lavó con Et₂O y se secó a 60 °C durante 16 h para proporcionar ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (150 mg, 0,373 mmol, rendimiento del 66,9 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,61 min, MH⁺ = 403.

Intermedio 29

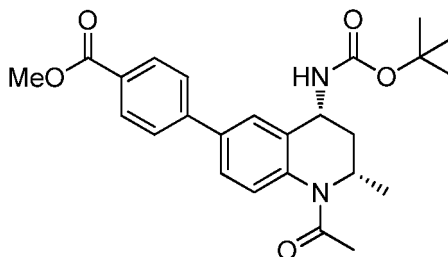
((2*S*,4*R*)-1-Acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo



Una solución de (2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinamina (11,3 g, 39,9 mmol) en DCM (120 ml) a temperatura ambiente se trató con trietilamina (16,69 ml, 120 mmol) y después Boc₂O (12,97 ml, 55,9 mmol) y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 1 h. Se añadieron porciones adicionales de base y anhídrido (20 %) y, después de 30 min, la mezcla se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO₃, se secó (frita hidrófoba) y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía, eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexano; que proporcionó ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo (9,2 g, 24,00 mmol, rendimiento del 60,1 %) en forma de una espuma de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,14 min, MH⁺ = 383/385.

Intermedio 30

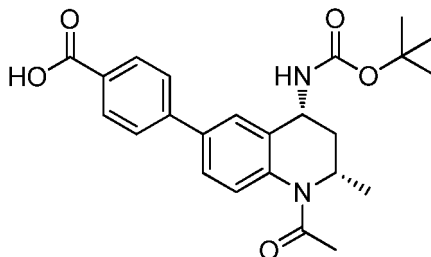
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo



A un matraz cargado con ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo (para una preparación véase el Intermedio 29) (5 g, 13,05 mmol), ácido 4-(metoxycarbonil)fenilborónico (2,58 g, 14,35 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (1,507 g, 1,305 mmol) y carbonato de potasio (5,41 g, 39,1 mmol) se le añadió DME (50 ml) y agua (10,0 ml) y la mezcla resultante se agitó a 100 °C en atmósfera de nitrógeno durante 1 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y la mayor parte del DME se evaporó al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y agua y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía, eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexanos; que proporcionó 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (5,35 g, 12,20 mmol, rendimiento del 94 %) en forma de una espuma de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,18 min, MH⁺ = 439.

Intermedio 31

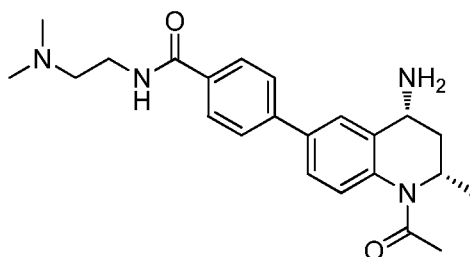
Ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico



Una solución de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4 tetrahydroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 30) (5,23 g, 11,93 mmol) en MeOH (80 ml) se trató con hidróxido de litio acuoso (1 M, 17,89 ml, 17,89 mmol) y la mezcla resultante, que se convirtió en una suspensión después de 5 minutos, se agitó. Después de 24 h, se añadió hidróxido de litio (17,89 ml, 17,89 mmol) y la mezcla (que para entonces era una solución) se agitó a 50 °C durante 3 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, la mayor parte del MeOH se evaporó al vacío y el residuo se trató con ácido acético (2,73 ml, 47,7 mmol). Después de 5 min, se formó un precipitado, se aisló por filtración, se lavó con agua y se secó a 45 °C al vacío durante 16 h para proporcionar ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoico (4,88 g, 11,50 mmol, rendimiento del 96 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,70 min, MH⁺ = 425.

Intermedio 32

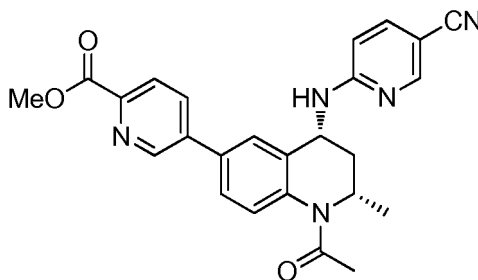
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil) benzamida



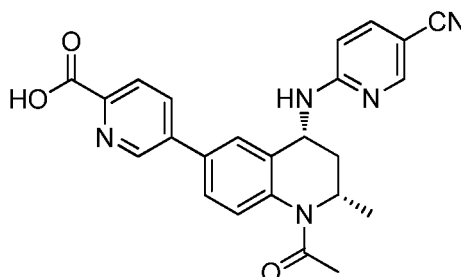
Una suspensión de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoyl)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo (para una preparación véase el Intermedio 41) triturado (8 g, posiblemente como la sal de PF6) se trató con 1,4-dioxano (30 ml) seguido de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 40 ml, 160 mmol). Después -30 min la mayor parte del dioxano se retiró y el residuo se disolvió en MeOH caliente (100 ml) a 70 °C durante 1,5 h. El material residual insoluble se filtró y se desechó. El filtrado se concentró al vacío y se purificó utilizando una columna SCX (70 g, pre-acondicionada con MeOH). El cartucho se lavó con MeOH (200 ml) y se eluyó con amoníaco en MeOH (2 M, 200 ml). Las fracciones de amoníaco metanólico se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida (3,65 g, 9,25 mmol, rendimiento del 84 %) en forma de una espuma de color amarillo. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,71 min, MH⁺ = 395.

Intermedio 33

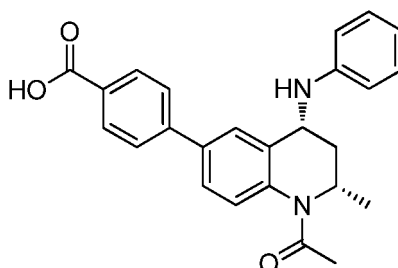
5-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolinato de metilo



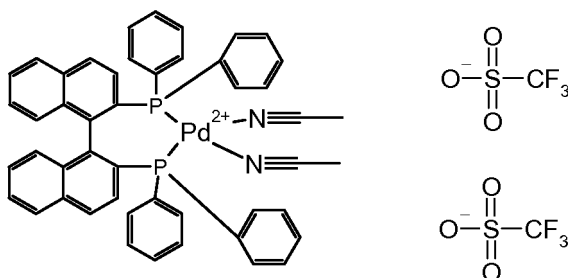
Se combinaron 6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (para una preparación véase el Intermedio 2) (3,25 g, 8,44 mmol), ácido {6-[(metiloxi)carbonil]-3-piridinil}borónico (1,832 g, 10,12 mmol), ácido {6-[metil(oxi)carbonil]3-piridinil}borónico (1,832 g, 10,12 mmol) y trietilamina (2,352 ml, 16,87 mmol) en MeOH (30 ml) y DME (5 ml). La mezcla de reacción se dividió entre 2 viales y cada uno se calentó a 120 °C durante 45 min. Las mezclas de reacción en bruto se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 4,4 g de un sólido de color marrón en bruto. Éste se purificó mediante cromatografía sobre sílice (100 g), eluyendo con más de 1500 ml de EtOAc (el compuesto se retiró por lixiviación lentamente) para proporcionar 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolinato de metilo (2,94 g, 6,66 mmol, rendimiento del 79 %) en forma de un sólido espumoso de color marrón. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,81 min, MH⁺ = 442.

Intermedio 34**Ácido 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolínico**

- Se disolvió 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 33) (2,94 g, 6,66 mmol) en 1,4-dioxano anhidro (20 ml). Se añadió agua (20,0 ml) seguido de hidróxido de litio (0,319 g, 13,32 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a t.a. Después de 1 h, el dioxano 1,4 se retiró al vacío y el residuo acuoso se trató con ácido acético (1,144 ml, 19,98 mmol). El precipitado de color naranja resultante se agitó durante 20 min, se aisló por filtración, se lavó con agua y se secó al vacío durante la noche para proporcionar ácido 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolínico (2,16 g, 4,55 mmol, rendimiento del 68,3 %) en forma de un sólido de color marrón. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,68 min, MH⁺ = 428.

Intermedio 35**Ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico**

- Se añadió Pd/C (22,1 mg, al 10 %, 0,208 mmol, que contenía ~50 % de agua) a una solución de ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 18) (369 mg, 0,848 mmol) y formiato de amonio (134 mg, 2,121 mmol) en etanol (5 ml) y DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo. Después de 1,5 h la mezcla de reacción se enfrió a t.a. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite™ y la torta del filtro se lavó con EtOH. El filtrado se concentró para proporcionar un aceite de color marrón claro (251 mg). La torta del filtro se lavó con una porción adicional de EtOH:DMF 1:1 (50 ml) y se combinó con el material anterior y se concentró para proporcionar ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (306 mg, 0,764 mmol, rendimiento del 90 %) en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,01 min, MH⁺ = 401.

Intermedio 36**(R-BINAP)ditriflatobis(acetonitrilo)paladio(II)**

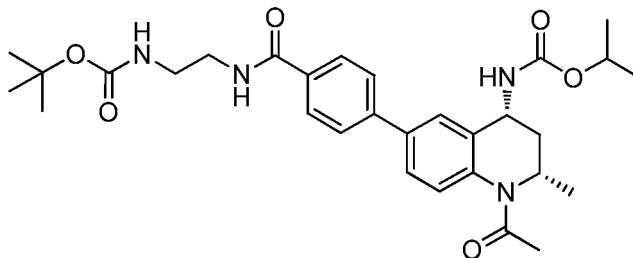
- Se agitó R-(+)-BINAP (6,08 g, 9,76 mmol, disponible de Avocado) en DCM (626 ml) y se añadió diclorobis(acetonitrilo)paladio(II) (2,5 g, 9,64 mmol, disponible de Aldrich). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 30 minutos, la suspensión no se había convertido en una solución y se añadió más DCM (100 ml). La mezcla se agitó durante 30 min y se añadió triflato de plata (5,00 g, 19,47 mmol, disponible de Aldrich) disuelto en

acetonitrilo (250 ml). La mezcla cambió de una suspensión turbia de color naranja a una suspensión de color amarillo. La mezcla se agitó durante 1 h, se filtró a través de Celite™ y se evaporó hasta un sólido de color naranja. El residuo se secó al vacío (aproximadamente a 14 mbar (1,40 kPa) a temperatura ambiente durante el fin de semana para proporcionar el producto deseado (10,69 g).

5 RMN ¹H (400 MHz, MeCN-d₃) δ ppm 2,0 (s, 6 H), 6,7 (d, 2H), 6,9 (m a, 4H), 7,1 (t a, 2H), 7,2 (t, 2H), 7,5-7,9 (m, 22H)

Intermedio 37

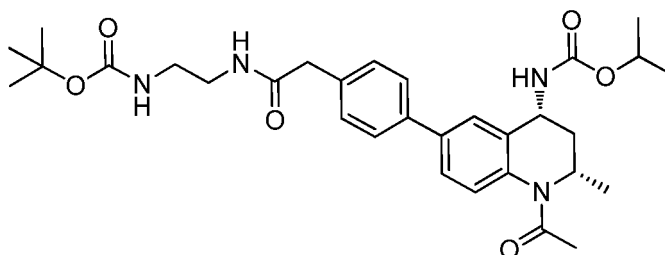
{(2*S*,4*R*)-1-acetil-6-[4-({[2-({[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil}amino)etil]amino}carbonil)fenil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo



A un matraz cargado con ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 48) (82 mg, 0,2 mmol) y HATU (0,091 g, 0,240 mmol) se le añadió DMF (2 ml) y la mezcla se trató con DIPEA (0,105 ml, 0,600 mmol) a temperatura ambiente. Después de 5 min, se añadió (2-aminoetil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (0,047 ml, 0,300 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM para proporcionar {(2*S*,4*R*)-1-acetil-6-[4-({[2-({[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil}amino)etil]amino}carbonil)fenil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (95 mg, 0,172 mmol, rendimiento del 86 %) en forma de una espuma de color un marrón pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,02 min, MH⁺ = 553.

Intermedio 38

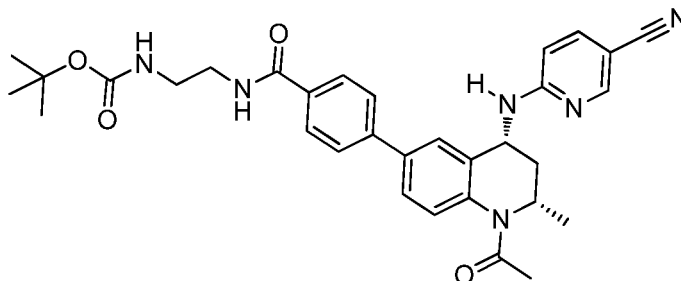
{(2*S*,4*R*)-1-acetil-6-[4-(2-({[2-({[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil}amino)etil]amino}-2-oxoetil)fenil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo



A un matraz cargado con ácido 2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético (para una preparación véase Intermedio 50) (85 mg, 0,2 mmol) y HATU (91 mg, 0,240 mmol) se le añadió DMF (2 ml) y la mezcla se trató con DIPEA (0,105 ml, 0,600 mmol) a temperatura ambiente. Después de 5 min, se añadió (2-aminoetil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (0,047 ml, 0,300 mmol), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y después se repartió entre EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía, eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM, para proporcionar {(2*S*,4*R*)-1-acetil-6-[4-(2-({[2-({[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil}amino)etil]amino}-2-oxoetil)fenil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (56 mg, 0,099 mmol, rendimiento del 49,4 %) en forma de una espuma de color amarillo pálido. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,91 min, MH⁺ = 455.

Intermedio 39

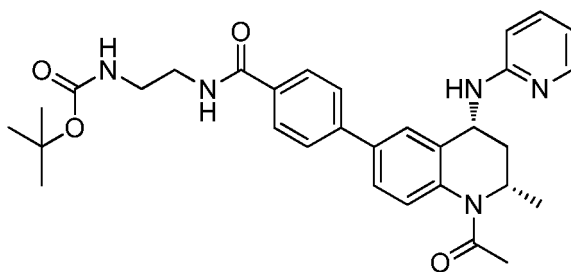
(2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de terc-butilo



- 5 A un matraz cargado con ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 4) (70 mg, 0,164 mmol) y HATU (74,9 mg, 0,197 mmol) se le
añadió DMF (3 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,086 ml, 0,492 mmol). Después de 5 min, se añadió
10 (2-aminoetil)carbamato de terc-butilo (52,6 mg, 0,328 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante
1 h y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y agua y las fases se separaron. La fase
acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado
(3 veces), después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar (2-(4-
15 ((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato
de terc-butilo en forma de una espuma de color marrón que se purificó adicionalmente por MDAP (HpH). Para
proporcionar (2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de terc-butilo (65 mg, 0,114 mmol, rendimiento del 69,6 %) en forma de un sólido de
color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,00 min, MH⁺ = 569.

Intermedio 40

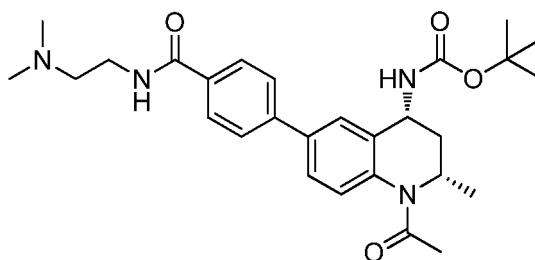
(2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de terc-butilo



CLEM (pH alto, 2 min), Tr = 1,01 min, MH⁺ = 544

Intermedio 41

((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo

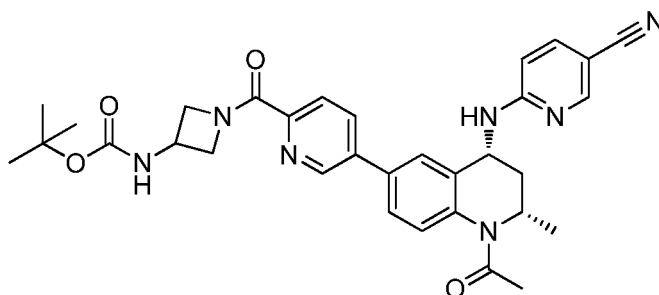


- 25 A un matraz cargado con ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 31) (4,88 g, 11,50 mmol) y HATU (5,25 g, 13,80 mmol) se le
añadió DMF (2 ml). La mezcla resultante se trató con DIPEA (6,02 ml, 34,5 mmol), a continuación, después de 5 min
con N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (1,317 g, 14,95 mmol). Después de 0,5 h la mayor parte de la DMF se retiró al
30 vacío. El residuo se trató con EtOAc y NaHCO₃ saturado. Apareció un sólido insoluble que se aisló por filtración y se
secó al vacío a 60 °C durante 3 h para proporcionar ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)fenil)-2-
metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo.

metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo en forma de un sólido de color blanco (8,5 g), que se utilizó sin purificación adicional en la reacción posterior. Las fases del filtrado se separaron y la acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado (3 veces), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar un líquido (2,1 g). Este líquido se cargó en un cartucho SCX (50 g, pre-acondicionado con MeOH) el cartucho se lavó con MeOH (200 ml) y se eluyó con amoníaco en MeOH (2 M, 200 ml). Las fracciones de amoníaco metanólico se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar una porción adicional de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoyl)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de terc-butilo (0,3 g, 0,6 mmol, rendimiento del 5 %) en forma de un sólido de color naranja. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,94 min, MH⁺ = 495.

10 Intermedio 42

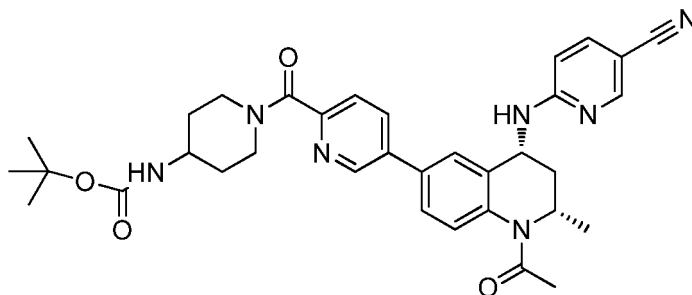
(1-(5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinoil)azetidin-3-il)carbamato de terc-butilo



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,97 min, MH⁺ = 582

15 Intermedio 43

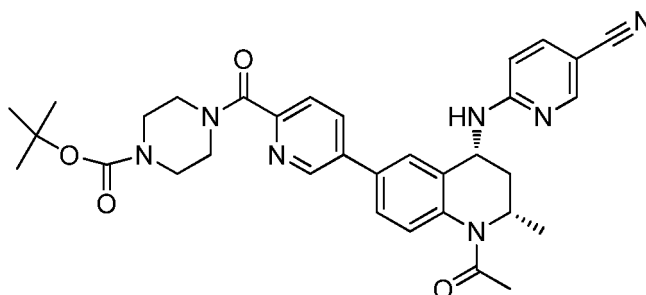
(1-(5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinoil)piperidin-4-il)carbamato de terc-butilo



CLEM (fórmico, 2 min), Tr = 0,97 min, MH⁺ = 610

20 Intermedio 44

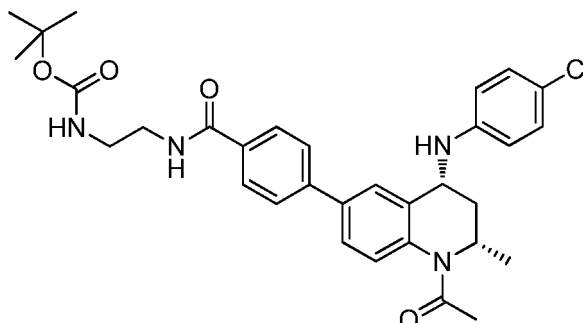
4-(5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinoil)piperazina-1-carboxilato de metilo



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,00 min, MH⁺ = 596

Intermedio 45

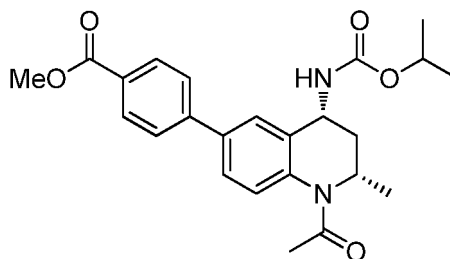
(2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de terc-butilo



5 CLEM (pH alto, 2 min), Tr = 1,20 min, MH- = 576

Intermedio 46

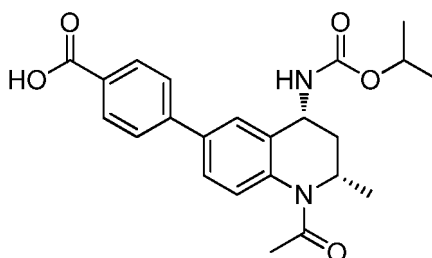
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo



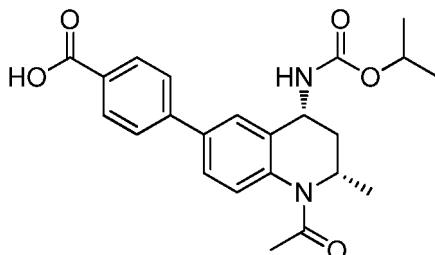
10 A una solución de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo (5 g, 13,54 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (3,90 g, 14,89 mmol) en DME (50 ml) y agua (10,0 ml) se le añadieron sucesivamente tetraquis(trifenilfosfina)paladio (1,565 g, 1,354 mmol) y carbonato de potasio (5,61 g, 40,6 mmol). La mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 1 h, después de lo cual se dejó enfriar a la temperatura ambiente y se filtró a través de Celite™. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se repartió entre EtOAc y agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentró al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en un cartucho de gel de sílice (50 g) eluyendo con EtOAc en ciclohexano (5-60 %). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((carbonilisopropoxi)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (4,64 g, 81 %) en forma de una goma de color blanco. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 1,09 min, MH+ = 425.

Intermedio 47

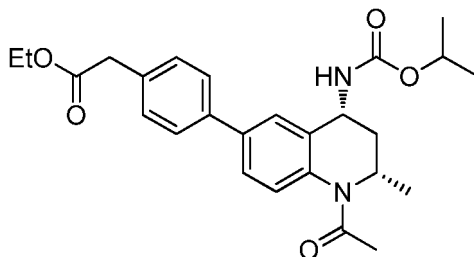
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio



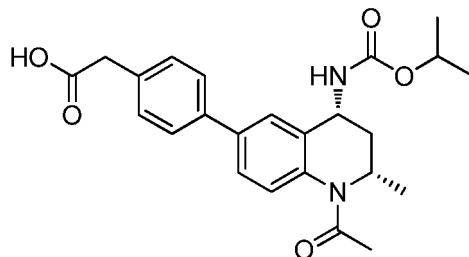
25 A una solución de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (para una preparación véase el Intermedio 46) (1,63 g, 3,84 mmol) en MeOH (20 ml) se le añadió hidróxido de litio (4,61 ml, 4,61 mmol). La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 6 h, después de lo cual se concentró a presión reducida para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio (1,65 g, 100 %) que no se purificó sino que se utilizó directamente en la etapa posterior. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,87 min, MH+ = 411.

Intermedio 48**Ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoico**

Se repartió 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoato de litio (1,05 g, 2,52 mmol) (para una preparación véase el Intermedio 47) entre EtOAc y ácido clorhídrico (2 M). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoico (898 mg, 87 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,87 min, MH⁺ = 411.

Intermedio 49**2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)fenil)acetato de etilo**

A un matraz cargado con (4-bromofenil)acetato de etilo (0,174 ml, 1,000 mmol), [(2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahydro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (416 mg, 1 mmol), carbonato de potasio (415 mg, 3,00 mmol) y PdCl₂(dppf) (73,2 mg, 0,100 mmol) se le añadieron 1,4-dioxano (6 ml) y agua (2,0 ml) y el matraz se lavó con nitrógeno. La mezcla resultante se agitó con irradiación de microondas a 120 °C durante 30 min después se enfrió a temperatura ambiente. El volumen de dioxano se retiró al vacío y el residuo se repartió entre EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía [(columna de 25 g, MeOH/DCM)] para proporcionar 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)fenil)acetato de etilo (270 mg, rendimiento del 59,7 %). Este compuesto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,16, MH⁺ = 453.

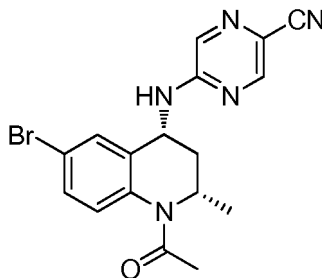
Intermedio 50**Ácido 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)fenil)acético**

A una solución de {4-[(2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-((1-metiletil)oxi)carbonil]amino)-1,2,3,4-tetrahydro-6-quinolinil}fenil}acetato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 49) (270 mg, 0,597 mmol) en MeOH (6 ml) y agua (2,0 ml) se le añadió hidróxido de sodio acuoso (2 N, 0,597 ml, 1,193 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó durante 6 h. Se añadió hidróxido de sodio acuoso (2 N, 0,5 ml) y la mezcla se dejó reposar durante la noche. El volumen de MeOH se retiró al vacío y el residuo resultante se repartió entre agua y Et₂O y las fases se separaron. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico (2 N, 2 ml) y se extrajo dos veces

con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar ácido {4-[(2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(((1-metiletil)oxi)carbonil)amino)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]fenil}acético (200 mg, 0,471 mmol, rendimiento del 79 %) en forma de una espuma de color marrón. Este compuesto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,65, MH+ = 425.

5 Intermedio 51

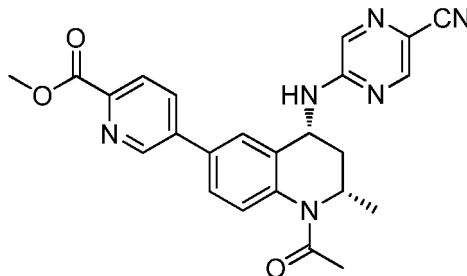
5-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo



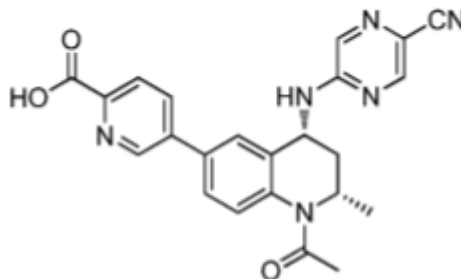
Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-6-bromo-2-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el intermedio 1) (50 mg, 0,177 mmol), 5-cloropirazin-2-carbonitrilo (37,0 mg, 0,265 mmol) y DIPEA (0,123 ml, 0,706 mmol) en NMP (1,5 ml) y se calentaron en un matraz sellado con irradiación de microondas a 200 °C durante 1 h. La mezcla se repartió entre agua (150 ml) y EtOAc (100 ml, 4 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (100 ml, 2 veces), se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía (columna de 25 g, gradiente de EtOAc/ciclohexano) para proporcionar 5-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo (61 mg, 0,158 mmol, rendimiento del 89 %) en forma de una goma de color marrón. CLEM (formiato, 2 min), Tr = 0,94 min, MH+ = 386/388.

Intermedio 52

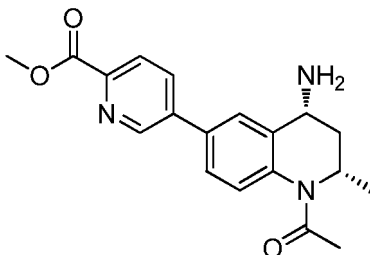
5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinato de metilo



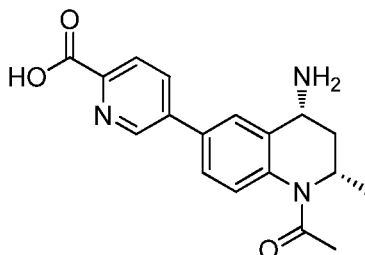
Se combinaron 5-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo (para una preparación, véase el Intermedio 51) (390 mg, 1,010 mmol), ácido (6-(metoxycarbonil)piridin-3-il)borónico (219 mg, 1,21 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (111 mg, 0,151 mmol) y trietilamina (0,281 ml, 2,02 mmol) en una mezcla de MeOH seco (6 ml) y DME (1 ml). La mezcla se calentó con irradiación de microondas a 120 °C durante 45 minutos. Después, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, gradiente de EtOAc/ciclohexano) para proporcionar 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinato de metilo (389 mg, 0,879 mmol, rendimiento del 87 %) en forma de un sólido de color rosa. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,84 min, MH+ = 443.

Intermedio 53**Ácido 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolínico**

- 5 Se añadió monohidrato de hidróxido de litio (83 mg, 1,97 mmol) en agua (5 ml) a 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolinato de metilo (para una preparación, véase el Intermedio 52) (435 mg, 0,983 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 70 minutos. Se añadió ácido acético (0,169 ml, 2,95 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos. La mezcla se filtró, el sólido recogido se lavó con agua, después se secó en un horno de vacío para proporcionar ácido 5-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolínico (181 mg, 0,422 mmol, rendimiento del 43 %) en forma de un sólido de color marrón.
- 10 CLEM: (formiato, 2 min) Tr = 0,66 min, MH+ = 429.

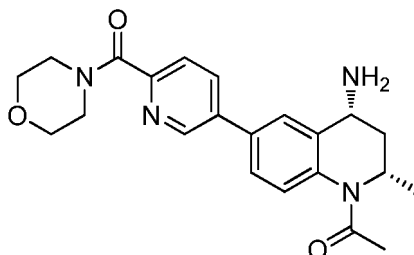
Intermedio 54**5-((2S,4R)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolinato de metilo**

- 15 Se combinaron (2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahydro-4-quinolinamina (para una preparación, véase el Intermedio 1) (600 mg, 1,88 mmol), 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)picolinato de metilo (593 mg, 2,25 mmol), PdCl₂(dppf) (206 mg, 0,282 mmol) y trietilamina (0,785 ml, 5,63 mmol) en DME (3 ml) y MeOH (12 ml) y la mezcla se calentó con irradiación de microondas a 110 °C durante 45 minutos.
- 20 En un vial separado, se combinaron (2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahydro-4-quinolinamina (para una preparación, véase el Intermedio 1) (50 mg, 0,156 mmol), 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)picolinato de metilo (49,4 mg, 0,188 mmol), PdCl₂(dppf) (17,17 mg, 0,023 mmol) y trietilamina (0,065 ml, 0,469 mmol) en DME (0,5 ml) y MeOH (1 ml) y la mezcla se calentó con irradiación de microondas a 110 °C durante 45 minutos. Las dos mezclas de reacción en bruto se combinaron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, EtOAc/ciclohexano seguido de gradiente de amoníaco metanólico 2 M/DCM). Las fracciones apropiadas se combinaron, se concentraron al vacío y se secaron en un horno de vacío para proporcionar un residuo. Este residuo se repartió entre bicarbonato de sodio sat. ac. (100 ml) y DCM (100 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar 5-((2S,4R)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolinato de metilo (555 mg, 1,64 mmol, rendimiento del 87 %).
- 25
- 30 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,53 min, MH+ = 340.

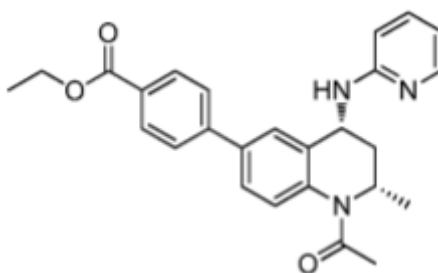
Intermedio 55**Ácido 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolínico**

A 5-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il-1-acetil)picolinato de metilo (para una preparación, véase el Intermedio 54) (550 mg, 1,62 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió monohidrato de hidróxido de litio (78 mg, 3,24 mmol) en agua (5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. La mezcla se concentró al vacío antes de añadir DCM. La mezcla se filtró, se secó al pasar a través de una frita hidrófoba y se concentró al vacío para proporcionar ácido 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolínico (517 mg, 1,59 mmol, rendimiento del 98 %).

CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,38 min, MH⁺ = 326.

Intermedio 56**1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

Se combinaron ácido 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)picolínico (para una preparación, véase el intermedio 55) (510 mg, 1,567 mmol), morfolina (0,149 ml, 1,72 mmol), HATU (656 mg, 1,724 mmol) y DIPEA (0,821 ml, 4,70 mmol) en DMF (5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió morfolina (0,149 ml, 1,72 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h adicionales. La mezcla se concentró al vacío antes de que se disolviera en DCM y se cargara en una columna ácido de aminopropilo SPE (50 g). La columna se eluyó con MeOH al 10 % en DCM y las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo. Este residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 50 g, gradiente de amoníaco metanólico 2 M/DCM) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (470 mg, 1,19 mmol, rendimiento del 76 %) en forma de un sólido de color beige. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,48 min, MH⁺ = 395.

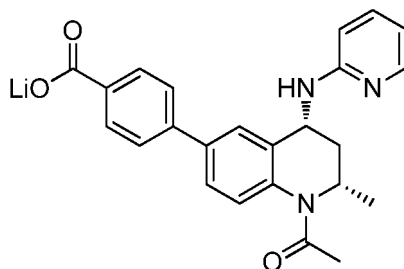
Intermedio 57**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoato de etilo**

Se añadió *tert*-butóxido de sodio (135 mg, 1,41 mmol) a una suspensión de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 16) (450 mg, 1,28 mmol), 2-bromopiridina (403 mg, 2,55 mmol), 2'-(dicianohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (40 mg, 0,102 mmol) y tris(dibencildienoacetona)dipaladio(0) (47 mg, 0,051 mmol) en tolueno anhidro (4,5 ml). La mezcla se calentó con irradiación de microondas a 120 °C durante 1 h en un vial sellado. La mezcla se repartió entre EtOAc y agua, la fase

acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, las fases orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 10 g, gradiente de EtOAc/ciclohexano seguido de gradiente de MeOH/EtOAc) para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de metilo (216 mg, 0,503 mmol, rendimiento del 39 %) en forma de una goma de color marrón. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,84 min, MH+ 430.

Intermedio 58

4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio

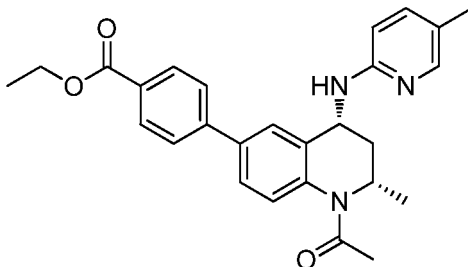


Se trató 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 57) (216 mg, 0,503 mmol) en EtOH (1 ml) y agua (0,5 ml) con monohidrato de hidróxido de litio (22 mg, 0,524 mmol) y la mezcla se agitó a t.a. durante el fin de semana. Una porción adicional de hidróxido de litio monohidratado (4 mg, 0,095 mmol) se añadió a la reacción y la mezcla se agitó durante 1 h. La mezcla se concentró a sequedad para proporcionar el producto en bruto 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio (160 mg) que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 0,62 min, MH+ 402.

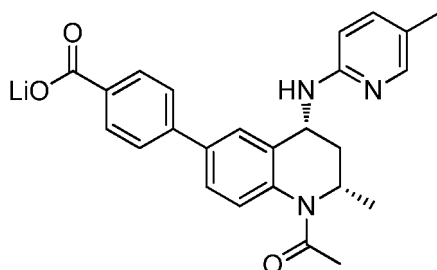
Intermedio 59

4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo

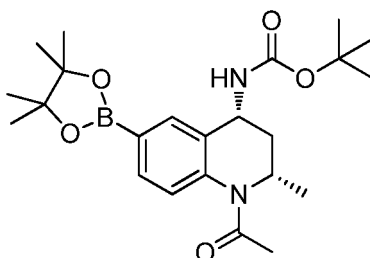


Se añadió *tert*-butóxido de sodio (135 mg, 1,41 mmol) a una suspensión de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo (para una preparación véase el Intermedio 16) (450 mg, 1,28 mmol), 2-bromo-metilpiridina (439 mg, 2,55 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (40 mg, 0,102 mmol) y tris(dibencildienoacetona)dipaladio(0) (47 mg, 0,051 mmol) en tolueno anhidro (4,5 ml). La mezcla se calentó con irradiación de microondas a 120 °C durante 1 h en un vial sellado. La mezcla se repartió entre EtOAc y agua, la fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, las fases orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 10 g, gradiente de EtOAc/ciclohexano seguido de gradiente de MeOH/EtOAc) para proporcionar un residuo. Este residuo se disolvió en una mezcla de EtOAc (0,6 ml) y ciclohexano (0,4 ml). La solución se trató con ciclohexano (3 ml) para proporcionar una emulsión, que se dejó reposar a temperatura ambiente durante un fin de semana. La solución se decantó del aceite de color marrón oscuro precipitado y se concentró a sequedad en una corriente de nitrógeno para proporcionar un aceite. Este aceite se trituró con ciclohexano (3 ml, 2 veces), la goma residual se aisló retirando por decantación el ciclohexano, se disolvió en EtOAc y se concentró a sequedad en una corriente de nitrógeno para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo en bruto en forma de una espuma de color marrón pálido (240 mg) que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

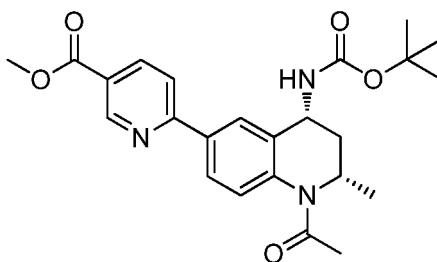
CLEM: (formiato, 2 min), tr = 0,88 min, MH+ 444.

Intermedio 60**4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio**

Se trató 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo (Intermedio 59) en bruto (238 mg) en EtOH (2 ml) y agua (1 ml) con monohidrato de hidróxido de litio (26 mg, 0,620 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Se añadió una porción adicional de monohidrato de hidróxido de litio (4 mg, 0,095 mmol) y la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró a sequedad para proporcionar 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio en bruto en forma de una espuma de color marrón (240 mg) que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 0,65 min, MH+ 416.

Intermedio 61**((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo**

Se combinaron ((2S,4R)-1-acetil-6-bromo-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (para una preparación, véase el Intermedio 29) (2,0 g, 5,22 mmol), bis(pinacolato)diboro (2,92 g, 11,48 mmol), PdCl₂(dppf) (0,191 g, 0,261 mmol) y acetato de potasio (1,54 g, 15,65 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml) y se desgasificaron. La mezcla después se calentó en una atmósfera de nitrógeno durante 75 min a 105 °C. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, EtOAc/ciclohexano) para proporcionar ((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (2,36 g, 4,94 mmol, rendimiento del 95 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 1,21 min, MH+ = 431.

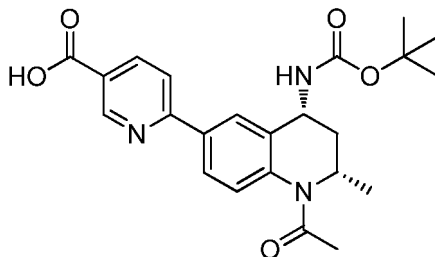
Intermedio 62**6-((2S,4R)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de metilo**

Se combinaron ((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 61) (2,2 g, 5,11 mmol), 6-bromonicotinato de metilo (1,325 g, 6,13 mmol), Pd(PPh₃)₄ (0,591 g, 0,511 mmol) y carbonato de potasio (2,120 g, 15,34 mmol) en metanol (10 ml) y DME (3 ml) y se calentaron con irradiación de microondas a 100 °C durante 70 minutos. En un vial separado, se combinaron ((2S,4R)-1-acetil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 61) (2,2 g, 5,11 mmol), 6-

bromonicotinato de metilo (1,325 g, 6,13 mmol), Pd(PPh₃)₄ (0,591 g, 0,511 mmol) y carbonato de potasio (2,120 g, 15,34 mmol) en metanol (10 ml) y DME (3 ml) y se calentaron con irradiación de microondas a 100 °C durante 70 minutos. Las dos mezclas de reacción se combinaron y se repartieron entre agua (150 ml) y DCM (150 ml, 3 veces). La fase acuosa se acidificó a pH 3 mediante la adición de HCl ac. y se extrajo con DCM (100 ml, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de metilo en bruto (2,2 g) que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 1,06 min, MH+ 440.

Intermedio 63

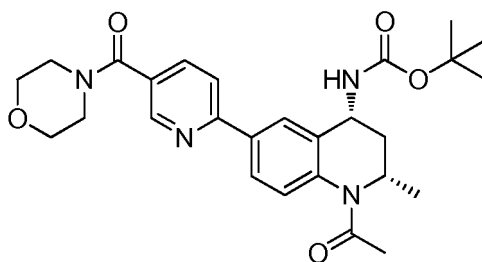
Ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico



A una solución en agitación de 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotinato de metilo en bruto (Intermedio 62) (2,2 g, 5,01 mmol) en MeOH (12 ml), se le añadió monohidrato de hidróxido de litio (0,144 g, 6,01 mmol) en agua (12 ml) y se la mezcla se calentó a 50 °C durante 70 minutos. Se añadió MeOH (10 ml) y la mezcla se agitó a 50 °C durante otros 50 minutos. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de que se repartiera entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (150 ml) y DCM (150 ml, 3 veces). La fase acuosa se trató después con HCl 2 M hasta acidez (pH ~3) antes de que se extrajera con DCM (150 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (2,08 g, 4,89 mmol). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,86 min, MH+ 426.

Intermedio 64

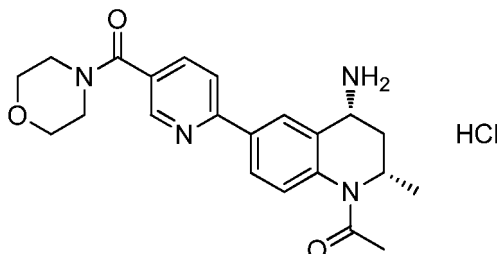
((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo



Se combinaron ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (para una preparación, véase el Intermedio 63) (2,05 g, 4,82 mmol), morfolina (2,084 ml, 24,09 mmol), HATU (2,015 g, 5,30 mmol) y DIPEA (2,52 ml, 14,45 mmol) en DMF (25 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. La mezcla se concentró al vacío antes de que se disolviera en DCM y se cargara en una columna SPE de aminopropilo (70 g). La columna se eluyó con MeOH al 10 % en DCM y las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron a sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, gradiente de EtOAc/ciclohexano) para proporcionar ((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (2,05 g, 4,14 mmol, rendimiento del 86 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,86 min, MH+ 495.

Intermedio 65

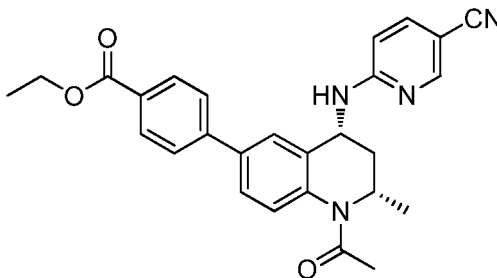
Clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



- 5 Se añadió ácido clorhídrico 4 M en 1,4-dioxano (10,11 ml, 40,4 mmol) a ((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (para una preparación, véase el Intermedio 64) (2 g, 4,04 mmol) a temperatura ambiente, seguido de MeOH (10 ml) y DCM (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 minutos. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (1,60 g, 3,71 mmol, rendimiento del 92 %).
- 10 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,50 min, MH+ 395.

Intermedio 66

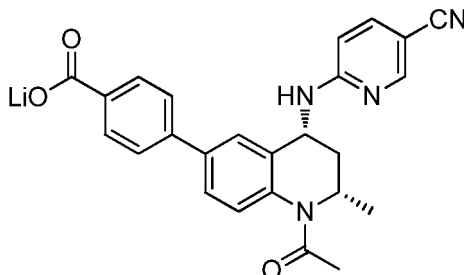
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo



- 15 Se trataron 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo (para una preparación, véase el Intermedio 16) (300 mg, 0,851 mmol) y 6-cloronicotinonitrilo (236 mg, 1,702 mmol) en NMP anhidro (5 ml) con DIPEA (0,445 ml, 2,55 mmol). El vial de reacción se selló y se calentó con irradiación de microondas a 200 °C durante 2 h. La solución enfriada se diluyó con agua a -20 ml, se agitó y el sólido pegajoso resultante se aisló por decantación. El sólido se disolvió en EtOAc, se lavó la solución con salmuera y se secó al pasar a través de una frita hidrófoba. La solución se concentró al vacío y el residuo se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo en bruto (120 mg) en forma de una goma de color beige que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 1,12 min, MH+ 455.
- 20

Intermedio 67

- 25 **4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio**

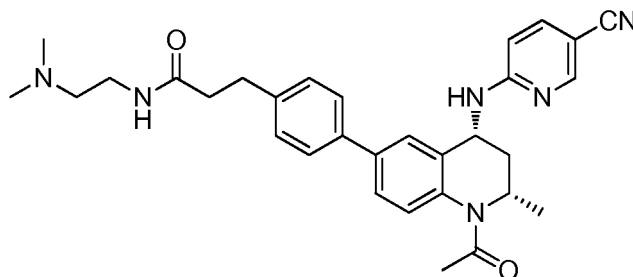


- Una solución de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de etilo (Intermedio 66) en bruto (120 mg) en EtOH (2 ml) se trató con monohidrato de hidróxido de litio (13 mg, 0,303 mmol) y agua (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante -24 h. La solución se concentró a sequedad para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio en bruto en forma de una espuma de color amarillo crujiente (110 mg) que se utilizó directamente
- 30

en la siguiente etapa sin purificación adicional. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,87 min, MH+ 427.

Ejemplo 1

3-(4-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)propanamida



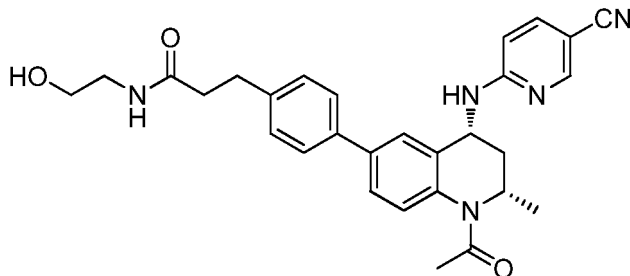
5

A una solución de ácido 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)propanoico (para una preparación véase el Intermedio 10) (58 mg, 0,128 mmol) y N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (22,50 mg, 0,255 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (72,8 mg, 0,191 mmol) y DIPEA (0,067 ml, 0,383 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 30 min, después, mezcla de reacción se repartió entre agua y EtOAc. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)propanamida (34,6 mg, 48 %) en forma de un aceite incoloro viscoso. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,71 min, MH+ = 525.

15

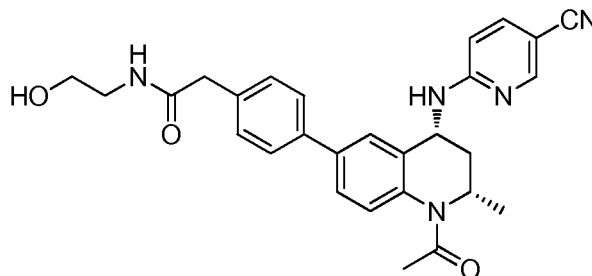
Ejemplo 2

3-(4-((2*S*,4*R*)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-*N*-(2-hidroxietil)propanamida

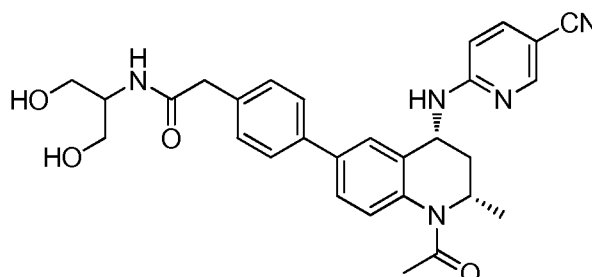


A una solución de 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)propanoico (para una preparación véase el Intermedio 10) (44 mg, 0,097 mmol) y etanolamina (0,012 ml, 0,194 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (55,2 mg, 0,145 mmol) y DIPEA (0,051 ml, 0,290 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 40 min, después se repartió entre agua y EtOAc. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 3-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-*N*-(2-hidroxietil)propanamida (22,8 mg, 47 %) en forma de un aceite de color amarillo viscoso. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,80 min, MH+ = 498.

25

Ejemplo 3**2-(4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(2-hidroxietil)acetamida**

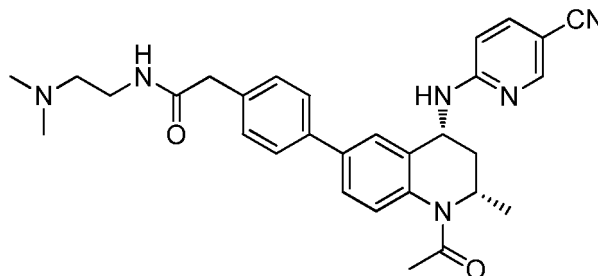
- 5 A una solución de ácido 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético, sal de litio (Intermedio 9) (166 mg, 0,377 mmol) y etanolamina (0,034 ml, 0,565 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (287 mg, 0,754 mmol) y DIPEA (0,197 ml, 1,131 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(2-hidroxietil)acetamida (21 mg, 11 %) en forma de un aceite incoloro. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,76 min, MH⁺ = 484.

Ejemplo 4**2-(4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(1,3-dihidroxipropan-2-il)acetamida**

- 20 A una solución de ácido 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético, sal de litio (para una preparación véase el Intermedio 9) (169 mg, 0,384 mmol) y 2-aminopropano-1,3-diol (69,9 mg, 0,767 mmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (190 mg, 0,499 mmol) y DIPEA (0,201 ml, 1,151 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificaron por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(1,3-dihidroxipropan-2-il)acetamida (83 mg, 42 %) en forma de un aceite incoloro. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,73 min, MH⁺ = 514.

Ejemplo 5

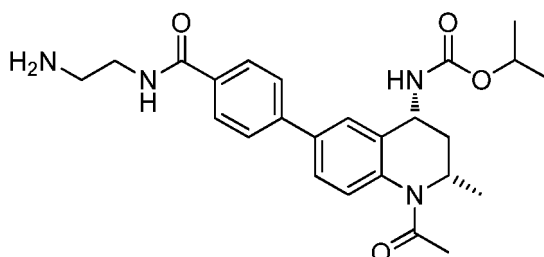
2-(4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(dimetilamino)etil)acetamida



- 5 A una solución de ácido 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)acético, sal de litio (para una preparación véase el Intermedio 9) (125 mg, 0,284 mmol) y N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (32,5 mg, 0,369 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (162 mg, 0,426 mmol) y DIPEA (0,149 ml, 0,851 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 2-(4-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)fenil)-N-(2-(dimetilamino)etil)acetamida (59 mg, 41 %) en forma de un aceite incoloro. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,65 min, MH⁺ = 511.

Ejemplo 6

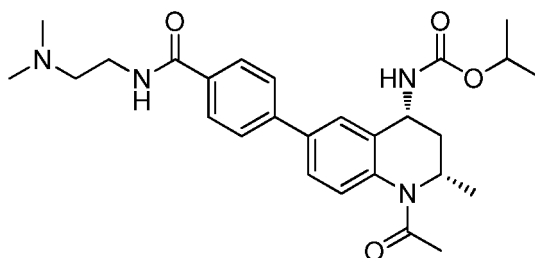
Clorhidrato de ((2S,4R)-1-acetil-6-(4-((2-aminoetil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo



- 20 Una solución de {(2S,4R)-1-acetil-6-[4-({[2-({[1,1-dimetiletetil]oxi]carbonil)amino]etil}amino)carbonil]fenil}-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil}carbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el Intermedio 37) (90 mg, 0,163 mmol) en dioxano (2 ml) se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 2 ml, 8,00 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, después se concentró al vacío. El residuo resultante se trituroó con Et₂O y se aisló por filtración para proporcionar clorhidrato de ((2S,4R)-1-acetil-6-(4-((2-aminoetil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo (68 mg, 0,139 mmol, rendimiento del 85 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,78 min.

Ejemplo 7

((2S,4R)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo

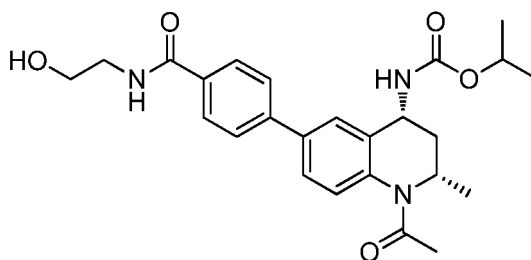


- 30 A una solución de ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 48) (67 mg, 0,163 mmol) y N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina

(28,8 mg, 0,326 mmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (93 mg, 0,245 mmol) y DIPEA (0,086 ml, 0,490 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se hidrolizó por adición de agua y EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo (35 mg, 41 %) en forma de un aceite incoloro viscoso. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,65 min, MH⁺ = 481.

Ejemplo 8

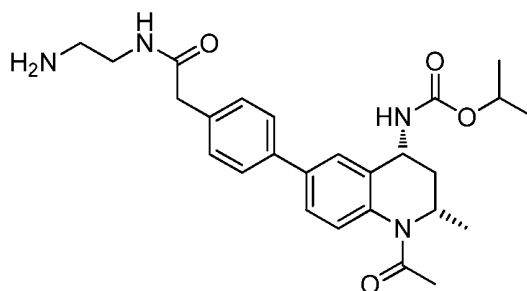
((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-hidroxietil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo



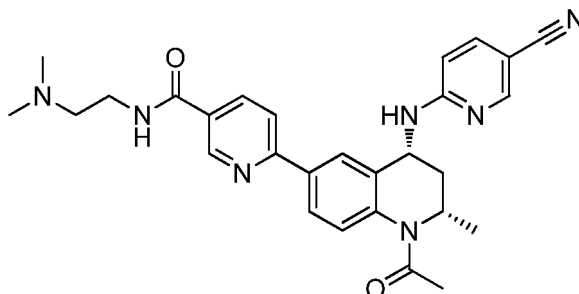
A una solución de ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((isopropoxycarbonil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 48) (116 mg, 0,283 mmol) y etanolamina (0,034 ml, 0,565 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron HATU (161 mg, 0,424 mmol) y DIPEA (0,148 ml, 0,848 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se añadieron agua y EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 y se purificó por MDAP (formiato). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-((2-hidroxietil)carbamoil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo (102 mg, 80 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,76 min, MH⁺ = 454.

Ejemplo 9

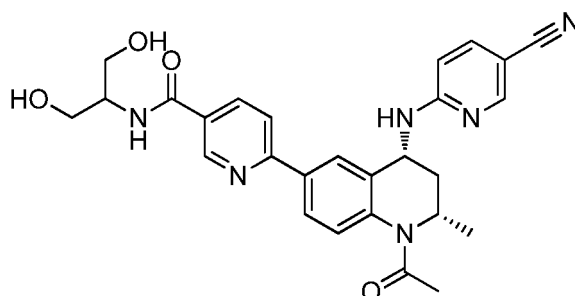
Clorhidrato de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-(2-((2-aminoetil)amino)-2-oxoetil)fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)carbamato de isopropilo



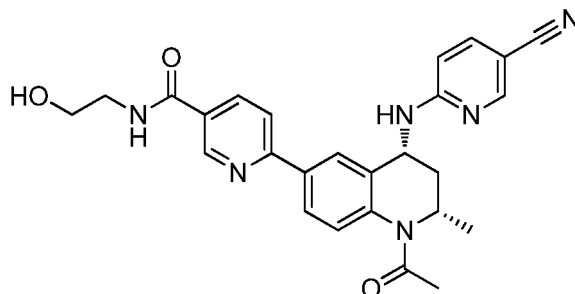
Una solución de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-[4-(2-([2-((1,1-dimetiletil)oxi)carbonil)amino)etil]amino]-2-oxoetil)fenil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (para una preparación véase el Intermedio 38) (60 mg, 0,106 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 2 ml, 8,00 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y después se concentró al vacío. El residuo se trituró con Et₂O y el sólido se aisló por filtración para proporcionar clorhidrato de ((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-[2-((2-aminoetil)amino)-2-oxoetil]fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-4-quinolinil]carbamato de 1-metiletilo (28 mg, 0,056 mmol, rendimiento del 52,6 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,79 min, MH⁺ = 467.

Ejemplo 10**6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida**

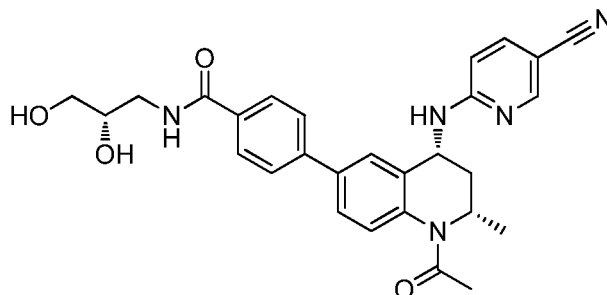
- 5 A un matraz cargado con ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (para una preparación véase el Intermedio 7) (90 mg, 0,211 mmol) y HATU (96 mg, 0,253 mmol) se le
añadió DMF (3 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,110 ml, 0,632 mmol). Después de agitar durante
5 min, la mezcla se trató con *N*1,*N*1-dimetiletano-1,2-diamina (37,1 mg, 0,421 mmol). Después de agitar durante
3 min, la solución se repartió entre EtOAc y solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se separaron las fases. La fase
acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado
(3 veces), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH). Las
fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió posteriormente en MeOH y se
secó (frita hidrófoba). El disolvente se retiró y el residuo se trituró en Et₂O para proporcionar 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-
(5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida (36 mg,
0,072 mmol, rendimiento del 34,4 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,73 min, MH⁺
= 471.

Ejemplo 11**6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxipropan-2-il)nicotinamida**

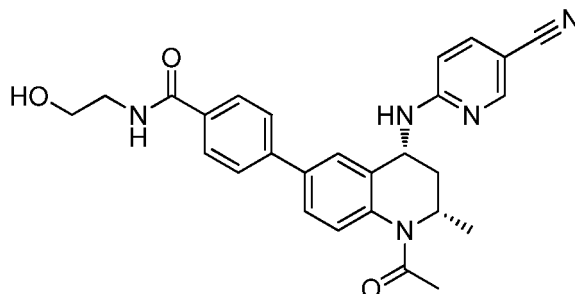
- 20 A un matraz cargado con ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (para una preparación véase el Intermedio 7) (90 mg, 0,211 mmol) y HATU (96 mg, 0,253 mmol) se le
añadió DMF (3 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,110 ml, 0,632 mmol). Después de agitar durante
5 min, la mezcla se trató con 2-aminopropano-1,3-diol (38,4 mg, 0,421 mmol). Después de agitar durante 3 min, la
solución se repartió entre EtOAc y solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se separaron las fases. La fase acuosa
se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (3
veces), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH). Las
fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió posteriormente en MeOH y se
secó (frita hidrófoba). El disolvente se retiró y el residuo se trituró en Et₂O para proporcionar 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-
(5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxipropan-2-il)nicotinamida (26 mg,
0,052 mmol, rendimiento del 24,67 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,81 min,
MH⁺ = 498.

Ejemplo 12**6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxi-etil)nicotinamida**

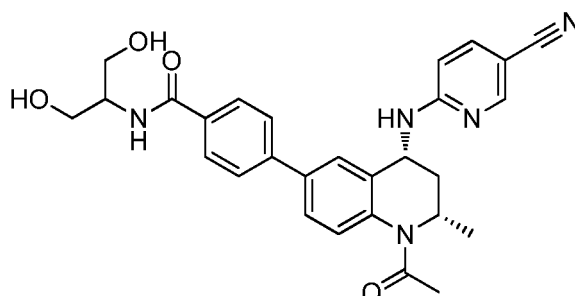
- 5 A un matraz cargado con ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (para una preparación véase el Intermedio 7) (90 mg, 0,211 mmol) y HATU (96 mg, 0,253 mmol) se le añadió DMF (3 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,110 ml, 0,632 mmol). Después de agitar durante 5 min, la mezcla se trató con 2-aminoetanol (0,013 ml, 0,211 mmol). Después de agitar durante 3 min, la solución se repartió entre EtOAc y solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (3 veces), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH). Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió posteriormente en MeOH y se secó (frita hidrófoba). El disolvente se retiró y el residuo se trituró en Et₂O para proporcionar 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxi-etil)nicotinamida (37 mg, 0,079 mmol, rendimiento del 37,3 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM (HpH, 2 min), Tr = 0,70 min, MH⁺ = 501.

Ejemplo 13**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-((*S*)-2,3-dihidroxipropil)benzamida**

- 20 Una solución de ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 4) (90 mg, 0,211 mmol) en DMF (2 ml) se trató con EDC (48,5 mg, 0,253 mmol), clorhidrato de HOBT (38,8 mg, 0,253 mmol) y *N*-etil morfolina (0,080 ml, 0,633 mmol) y después de 3 minutos con (*S*)-3-aminopropano-1,2-diol (38,5 mg, 0,422 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, después se añadieron EDC (48,5 mg, 0,253 mmol), *N*-etil morfolina (0,080 ml, 0,633 mmol), HOBT (38,8 mg, 0,253 mmol) y (*S*)-3-aminopropano-1,2-diol (38,5 mg, 0,422 mmol) adicional y la mezcla correspondiente se agitó durante 16 h y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre agua y EtOAc y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (3 veces), después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-((*S*)-2,3-dihidroxipropil)benzamida (30 mg, 29 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,75 min, MH⁺ = 500.

Ejemplo 14**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxietil)benzamida**

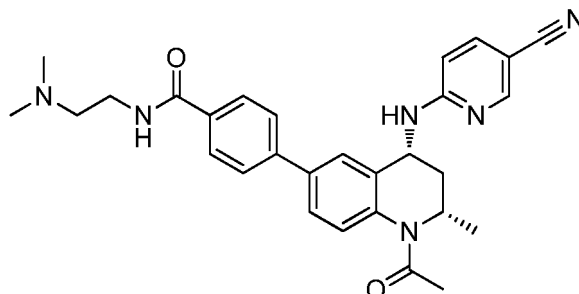
- 5 Una solución de ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 4) (90 mg, 0,211 mmol) en DMF (2 ml) se trató con EDC (48,5 mg, 0,253 mmol), clorhidrato de HOBt (38,8 mg, 0,253 mmol) y *N*-etil morfolina (0,080 ml, 0,633 mmol) y después de 3 min con 2-aminoetanol (0,025 ml, 0,422 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, después se añadieron EDC (48,5 mg, 0,253 mmol), *N*-etil morfolina (0,080 ml, 0,633 mmol), HOBt (38,8 mg, 0,253 mmol) y 2-aminoetanol adicional (0,025 ml, 0,422 mmol) y la mezcla correspondiente se agitó durante 16 h y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre agua y EtOAc y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (3 veces), después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (8 mg, 8 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,78 min, MH⁺ = 470.

Ejemplo 15**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida**

- 20 A un matraz cargado con ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 4) (90 mg, 0,211 mmol) y HATU (96 mg, 0,253 mmol) se le añadió DMF (3 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,111 ml, 0,633 mmol). Después de 5 min, la mezcla se trató con 2-aminopropano-1,3-diol (38,5 mg, 0,422 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, después de lo cual la mayor parte del disolvente se retiró y el residuo se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con y NaHCO₃ acuoso saturado (3 veces), después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH). Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en MeOH y se secó (frita hidrófoba). Después, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con Et₂O para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida (32 mg, 0,064 mmol, rendimiento del 30 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,75 min, MH⁺ = 500.

Ejemplo 16

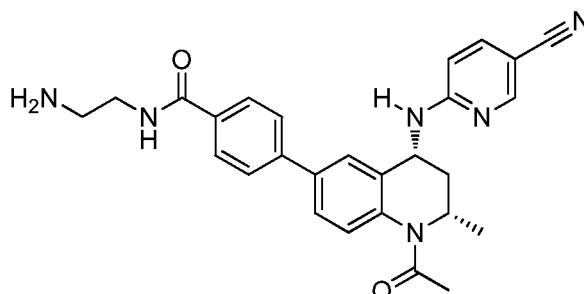
Diclorhidrato de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)benzamida



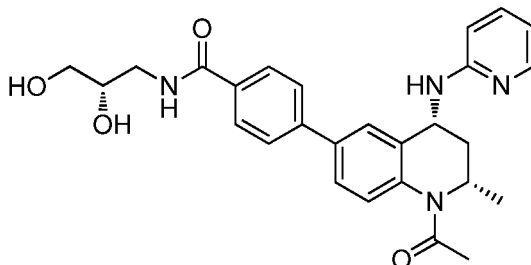
- 5 A un matraz cargado con ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 4) (100 mg, 0,234 mmol) y HATU (107 mg, 0,281 mmol) se le añadió DMF (2 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,123 ml, 0,703 mmol). Después de 5 min, se añadió *N*1,*N*1-dimetiletano-1,2-diamina (41,3 mg, 0,469 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. El volumen de DMF se retiró y el residuo se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH). Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. El residuo se co-evaporó con tolueno, se disolvió en 1,4-dioxano (4 ml) y posteriormente se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 1 ml). La mezcla resultante se agitó durante 5 min a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo obtenido se trituró con Et₂O después se secó al vacío para proporcionar diclorhidrato de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)benzamida, (38 mg, 0,067 mmol, rendimiento del 28,5 %) en forma de un sólido de color amarillo muy pálido. CLEM (High pH, 2 min), Tr = 0,87 min, MH⁺ = 497.

Ejemplo 17

Clorhidrato de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-aminoetil)benzamida



- 20 Una suspensión de (2-(4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-quinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de *tert*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 39) (65 mg, 0,114 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml) a temperatura ambiente se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 2 ml, 8,00 mmol) y la suspensión resultante se agitó a esta temperatura durante 1 h, después se concentró al vacío. El precipitado formado se trituró con Et₂O, se aisló por filtración y se secó al vacío para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-aminoetil)benzamida, clorhidrato (60 mg, 0,119 mmol, rendimiento del 104 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,75 min, MH⁺ = 469.

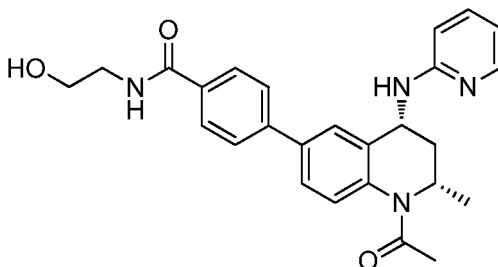
Ejemplo 18**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*S*)-2,3-dihidroxipropil)benzamida**

- 5 Una solución de ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 23) (70 mg, 0,174 mmol) en DMF (2 ml) se trató con EDC (40,1 mg, 0,209 mmol), HOBT (32,0 mg, 0,209 mmol) y *N*-etilmorfolina (0,066 ml, 0,523 mmol) y después de 3 minutos con (*S*)-3-amino-propano-1,2-diol (15,89 mg, 0,174 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h después se añadieron EDC (40,1 mg, 0,209 mmol), *N*-etilmorfolina (0,066 ml, 0,523 mmol), HOBT (32,0 mg, 0,209 mmol) y (*S*)-3-aminopropano-1,2-diol (15,89 mg, 0,174 mmol) adicionales y la mezcla se agitó durante 16 h antes de concentrarse al vacío. El residuo se repartió entre agua y EtOAc y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (3 veces) y después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. La trituración del residuo con Et₂O proporcionó
- 10 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*S*)-2,3-dihidroxipropil)benzamida (36 mg, 0,076 mmol, rendimiento del 43,5 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.
- 15 CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,76 min, MH⁺ = 475

Los siguientes análogos se prepararon utilizando el procedimiento anterior con la amina apropiada:-

Ejemplo 19

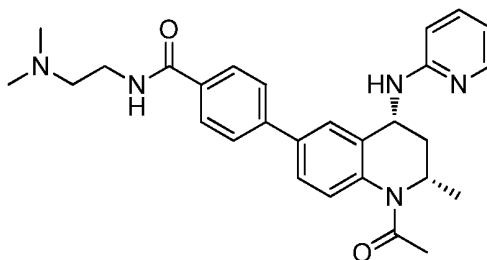
- 20 **4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxietil)benzamida**



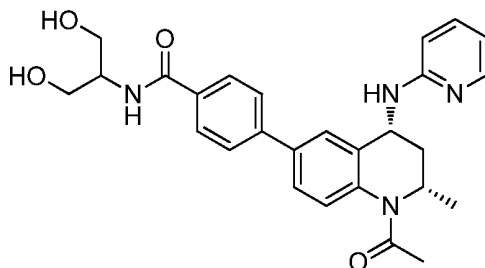
CL/EM (HpH, 2 min), Tr = 0,78 min, MH⁺ = 445

Ejemplo 20

- 25 **4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida**

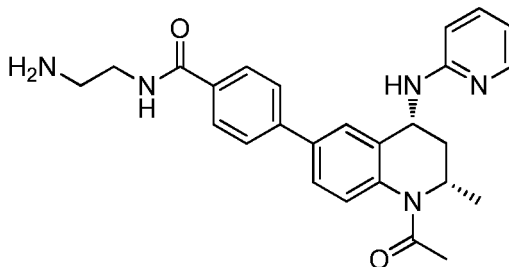


CL/EM (HpH, 2 min), Tr = 0,89 min, MH⁺ = 472

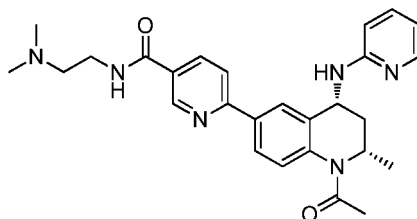
Ejemplo 21**4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida**

5 A un matraz cargado con ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 23) (70 mg, 0,174 mmol) y HATU (80 mg, 0,209 mmol) se le añadió DMF (3 ml) y la solución resultante se trató con DIPEA (0,091 ml, 0,523 mmol) y después de 5 min mediante 2-aminopropano-1,3-diol (31,8 mg, 0,349 mmol). La reacción se concentró al vacío, el residuo se repartió entre agua y EtOAc. Las fases se separaron y la acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado (3 veces) y después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por MDAP (HpH) y el residuo se trituró con Et₂O para proporcionar 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida (17 mg, 0,036 mmol, rendimiento del 20,55 %) en forma de un sólido de color amarillo muy pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,74 min, MH⁺ = 475.

15 El siguiente análogo se preparó utilizando el procedimiento anterior con la amina apropiada:-

Ejemplo 22**4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-aminoetil)benzamida**

20 Una suspensión de (2-(4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzamido)etil)carbamato de *tert*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 40) (35 mg, 0,064 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml) a temperatura ambiente se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 2 ml, 8,00 mmol) y la suspensión resultante se agitó durante 1 h a esta temperatura y después se concentró al vacío. El residuo se trituró con Et₂O, el sólido se aisló por filtración y se secó al vacío doméstico para proporcionar 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-aminoetil)benzamida, clorhidrato (30 mg, 0,062 mmol, rendimiento del 97 %) en forma de un sólido de color amarillo muy pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,74 min, MH⁺ = 444.

Ejemplo 23**6-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida**

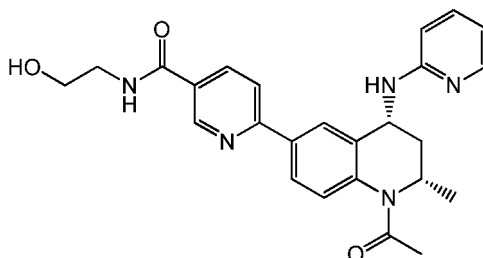
30

A un matraz cargado con ácido 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)nicotínico (para una preparación véase el Intermedio 28) (50 mg, 0,124 mmol) y HATU (56,7 mg, 0,149 mmol) se le añadió DMF (2 ml) y la mezcla resultante se trató con DIPEA (0,065 ml, 0,373 mmol) a continuación, después de 5 min con N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (21,90 mg, 0,248 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min después se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ saturado. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se dividió en 2 porciones y cada una se purificó por MDAP (HpH). Se recogieron las fracciones apropiadas y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en MeOH y se concentró de nuevo, después, se co-evaporó con tolueno. El residuo se disolvió a continuación en 1,4-dioxano (2 ml) y se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 0,5 ml). Después de 2 min el disolvente se evaporó al vacío y el precipitado formado se trituro con Et₂O, después se secó al vacío para proporcionar 6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida, en forma de la sal de d-clorhidrato (37 mg, 0,068 mmol, rendimiento del 54,6 %) en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,81 min, MH⁺ = 473.

Los siguientes análogos se prepararon utilizando el procedimiento anterior con la amina apropiada: -

Ejemplo 24

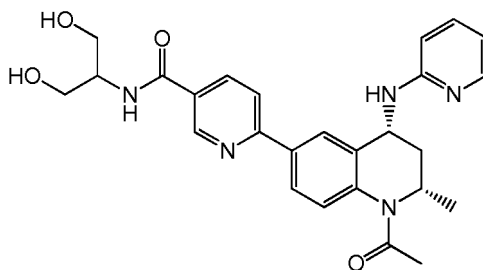
6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxietil)nicotinamida



CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,73 min, MH⁺ = 446.

Ejemplo 25

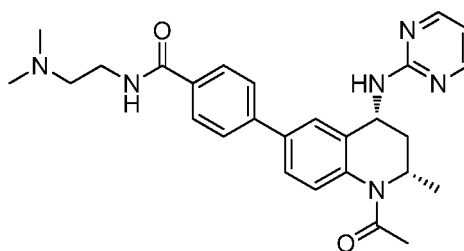
6-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(1,3-dihidroxipropan-2-il)nicotinamida



CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,69 min, MH⁺ = 476.

Ejemplo 26

4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(pirimidin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida

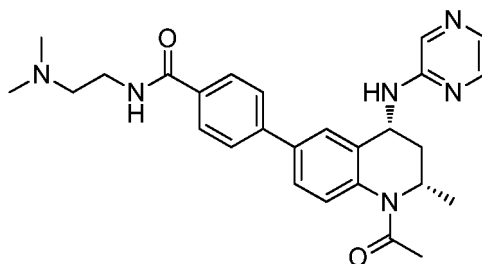


A un matraz cargado con 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida (para una preparación véase el Intermedio 32) (197 mg, 0,5 mmol), 2-bromopiridina

(238 mg, 1,500 mmol), *tert*-butóxido de sodio (240 mg, 2,500 mmol), 2-(dimetilamino)-2'-(díciclohexilfosfina) bifenilo (197 mg, 0,500 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (229 mg, 0,250 mmol) se le añadió tolueno desgasificado (4 ml) y la mezcla resultante se agitó en atmósfera de nitrógeno a 100 °C. Después de 2 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la mayor parte del disolvente se evaporó al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y solución saturada de NaHCO₃ y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado acuoso (3 veces), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en DCM y se cargó en una columna SCX (20 g). El cartucho se eluyó con DCM y después amoníaco en MeOH (2 N). Las fracciones de amoníaco metanólico se concentraron al vacío y se purificaron adicionalmente mediante cromatografía (columna de 25 g, elución con amoníaco 2 N en gradiente de MeOH/DCM) para proporcionar un residuo que se disolvió en 1,4-dioxano (4 ml) y la solución se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 0,5 ml). El precipitado que se formó se aisló por filtración y se secó a 60 °C al vacío durante 2 h para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(pirimidin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida, clorhidrato (93 mg, 0,183 mmol, 36,5 % rendimiento del 25 g) en forma de un sólido de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,79 min, MH⁺ = 473.

Ejemplo 27

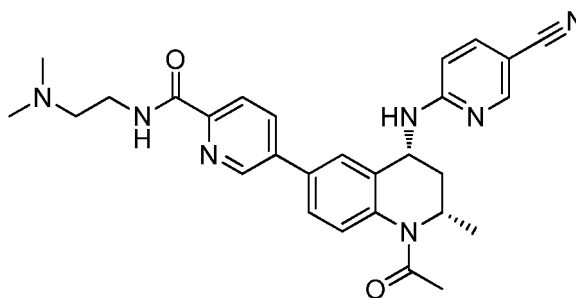
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(pirazin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida



A un matraz cargado con 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-amino-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida (para una preparación véase el Intermedio 32) (197 mg, 0,5 mmol), *tert*-butóxido de sodio (240 mg, 2,500 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (229 mg, 0,250 mmol) y 2-(dimetilamino)-2'-(díciclohexilfosfina)bifenilo (197 mg, 0,500 mmol) se le añadió tolueno desgasificado (4 ml). La mezcla resultante se trató con 2-cloropirazina (0,134 ml, 1,500 mmol) y después se agitó en atmósfera de nitrógeno a 100 °C durante ~45 min. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la mayor parte del disolvente se evaporó al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y una solución saturada de NaHCO₃ y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado acuoso (3 veces), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en DCM y se cargó en una columna SCX (20 g). El cartucho se eluyó con DCM, después con amoníaco en MeOH (2 N). Las fracciones de amoníaco metanólico se concentraron al vacío y se purificaron adicionalmente mediante cromatografía (columna de 25 g, elución con amoníaco 2 N en gradiente de MeOH/DCM) para proporcionar un residuo que se disolvió en 1,4-dioxano (4 ml). La solución se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 N, 0,5 ml). El precipitado formado se aisló por filtración y se secó a 60 °C al vacío durante 2 h para proporcionar 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(pirimidin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida, clorhidrato (93 mg, 0,183 mmol, rendimiento del 36,5 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,79 min, MH⁺ = 473.

Ejemplo 28

5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)picolinamida



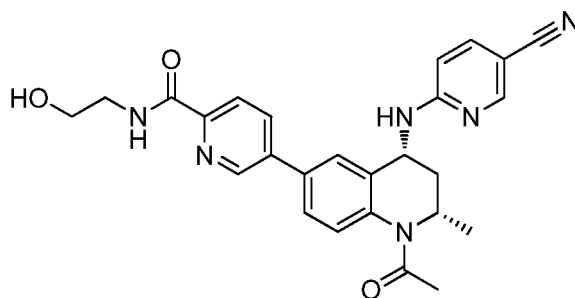
Se disolvió ácido 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolínico (para una preparación véase el Intermedio 34) (60 mg, 0,140 mmol) en DMF anhidro (3 ml) y se añadió HATU (64,0 mg, 0,168 mmol). Se añadió DIPEA (0,074 ml, 0,421 mmol) y después de otros 5 minutos de agitación a r.t. Se

- añadió N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (0,019 ml, 0,281 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a t.a. la mezcla de reacción se concentró al vacío y se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄) y se concentró para proporcionar un residuo de color amarillo que se purificó mediante cromatografía sobre un cartucho de sílice (10 g), eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM (2-12 %, más de 120 mls) para proporcionar un sólido de color amarillo pálido (28 mg). Este sólido se trató con 1,1 equivalentes de cloruro de hidrógeno 1 M en éter dietílico y la mezcla se trituró con éter dietílico para proporcionar 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxi-etil)picolinamida, clorhidrato (32 mg, 0,054 mmol, 38,4 %), sólido de color amarillo. CL/EM (fórmico, 2 min), Tr = 0,65 min, MH⁺ = 498.

Los siguientes análogos se prepararon utilizando el procedimiento anterior con la amina apropiada:-

10 Ejemplo 29

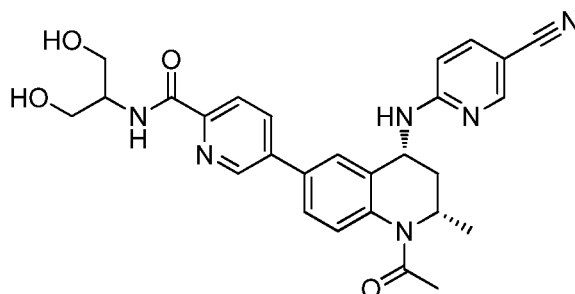
5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxi-etil)picolinamida



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,74 min, MH⁺ = 471

15 Ejemplo 30

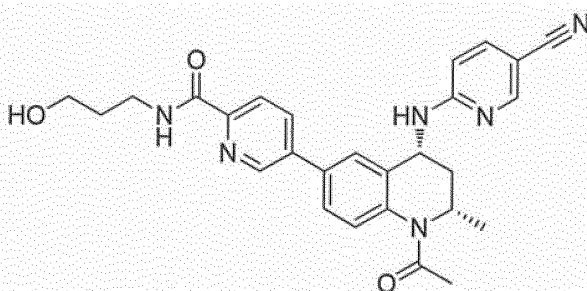
5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(1,3-dihidroxi-propan-2-il)picolinamida



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,70 min, MH⁺ = 501

20 Ejemplo 31

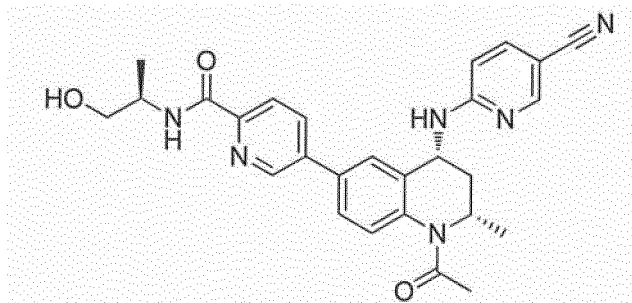
5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(3-hidroxipropil)picolinamida



CLEM (fórmico, 2 minutos), Tr = 0,77 min, MH⁺ = 485

Ejemplo 32

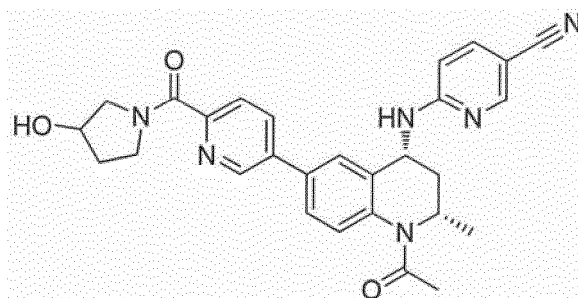
5-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*R*)-1-hidroxi-propan-2-il)picolinamida



5 CLEM (formiato, 2 min), Tr = 0,79 min, MH+ = 485

Ejemplo de referencia 33

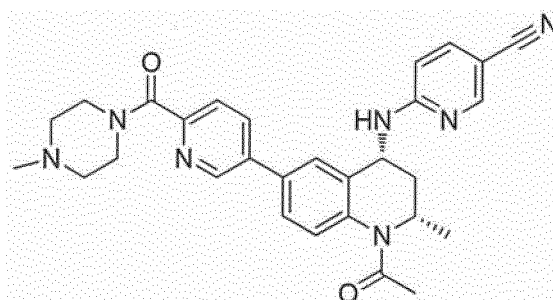
6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(6-(3-hidroxipirrolidina-1-carbonil)piridin-3-il)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo



10 CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,72 min, MH+ = 497

Ejemplo de referencia 34

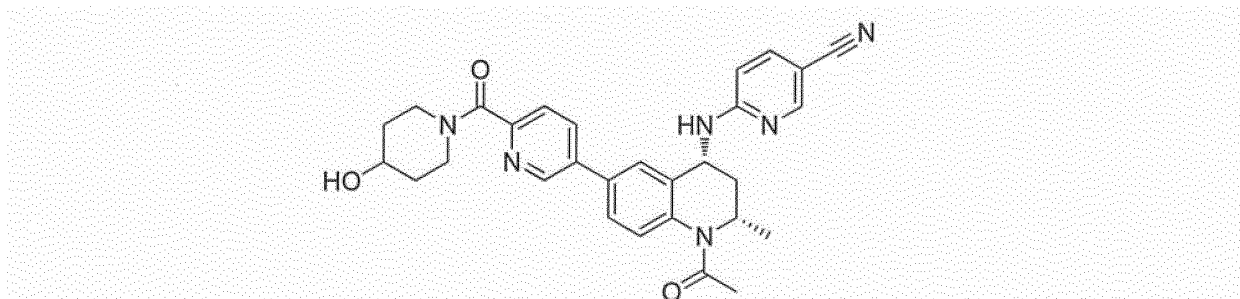
6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(6-(4-metilpiperazina-1-carbonil)piridin-3-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo



15 CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,64 min, MH+ = 510

Ejemplo de referencia 35

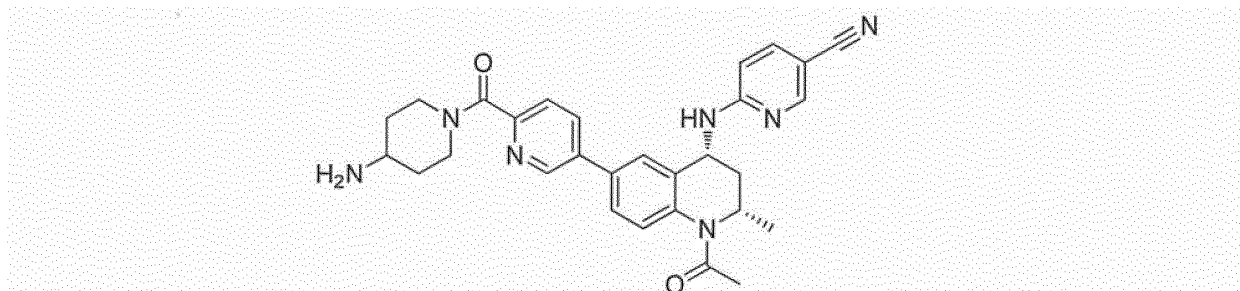
6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-hidroxipiperidina-1-carbonil)piridin-3-il)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo



5 CLEM (formiato, 2 min), Tr = 0,72 min, MH+ = 511

Ejemplo de referencia 36

6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(4-aminopiperidina-1-carbonil)piridin-3-il)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo



10 Se disolvió (1-(5-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinoil)piperidin-4-il)carbamato de *terc*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 43) (0,258 ml, 0,313 mmol) en DCM anhidro (4 ml). TFA (1 ml, 12,98 mmol) y la mezcla de reacción que se agitó en atmósfera de nitrógeno a t.a. durante 8 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se cargó en un cartucho SCX (5 g, pre-

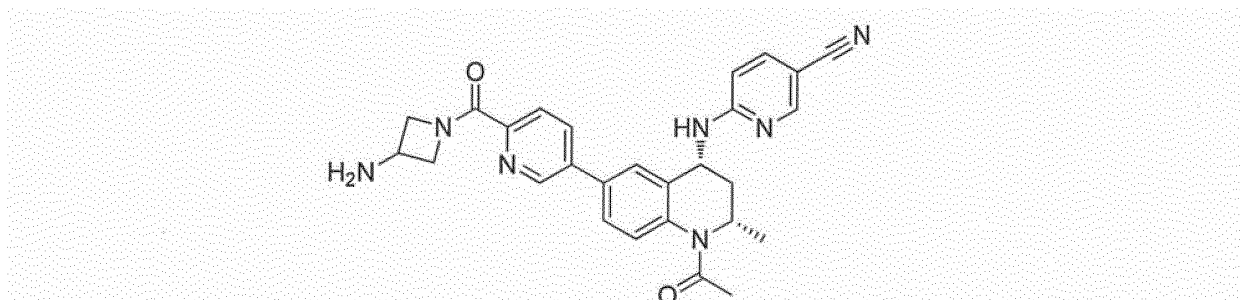
15 fracciones de amoníaco metanólico se concentraron para proporcionar un aceite de color naranja. El aceite se purificó adicionalmente mediante cromatografía en un cartucho de sílice (10 g), eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM (al 2-12 %, más de 120 mls seguido de NH₃ al 10 % 2 M en MeOH/DCM para 120 mls para proporcionar un sólido de color naranja pálido. El sólido se volvió a disolver en MeOH (1 ml) y se añadieron 1,1 equivalentes de cloruro de hidrógeno 1 M en éter dietílico. La mezcla se trituró con éter dietílico para proporcionar 6-

20 (((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(6-(4-aminopiperidina-1-carbonil)piridin-3-il)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo, clorhidrato (19 mg, 0,030 mmol, rendimiento del 8,59 %) en forma de un sólido de color naranja. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,60 min, MH+ = 510.

Los siguientes análogos se prepararon utilizando el procedimiento anterior:-

Ejemplo de Referencia 37

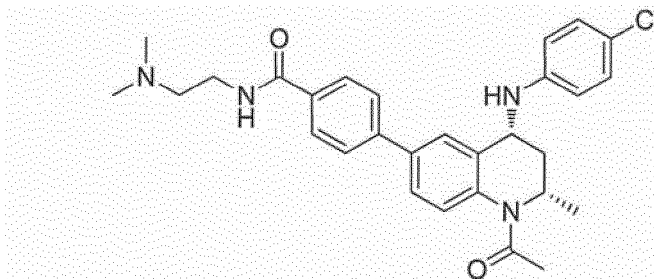
25 **6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-6-(6-(3-aminoazetidina-1-carbonil)piridin-3-il)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo**



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,60 min, MH+ = 482

Ejemplo 38

4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida

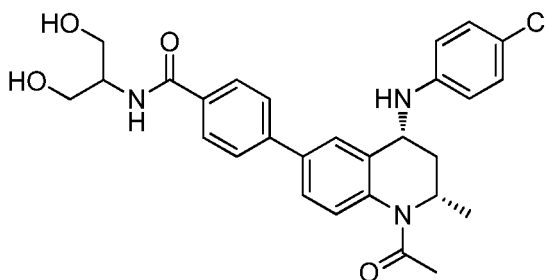


5

Se suspendió ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil}benzoico (para una preparación véase el Intermedio 18) (150 mg, 0,345 mmol) en DCM (3 ml) y DMAP (51,5 mg, 0,422 mmol) y después DCC (78,8 mg, 0,382 mmol). La reacción se agitó durante 5 min antes de que se añadiera N,N-dimetil-etilendiamina (33,4 mg, 0,379 mmol) en DCM (0,5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se concentró al vacío. El residuo se recogió en el volumen mínimo de MeOH al 5 % en DCM y se aplicó a un cartucho de 25 g y se dejó secar en el horno de vacío a 40 °C durante 30 minutos. El cartucho se eluyó con de amoníaco 2 M al 1 % en metanol en DCM durante 2 VC después, amoníaco 2 M al 1-10 % en metanol durante 10 VC, después se mantuvo al 10 % durante 5 VC. El producto se aisló en forma de un sólido de color amarillo que se purificó adicionalmente por MDAP (HpH). Las fracciones que contenían producto se concentraron al vacío. El residuo se recogió en el volumen mínimo de MeOH y se aplicó a un cartucho SCX (5 g) que se eluyó con MeOH (20 ml) y después amoníaco en MeOH (2M, 20 ml). La fracción de amoníaco se concentró al vacío para proporcionar un aceite transparente. (85,8 mg, 0,17 mmoles). Este se recogió en el volumen mínimo de DCM y se añadieron 1,1 eq de HCl 1 M en Et₂O (0,19 ml). El disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno y se añadió Et₂O (~2 ml) al residuo y después se retiró en una corriente de nitrógeno para proporcionar 4-amino[(4-clorofenil)-((2S,4R)-1-acetil-4)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]-N-[2-(dimetilamino)etil]benzamida (77,2 mg, 0,140 mmol, rendimiento del 40,7 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0.85min, MH+ = 505.

Ejemplo 39

4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(1,3-dihidroxipropan-2-il)benzamida

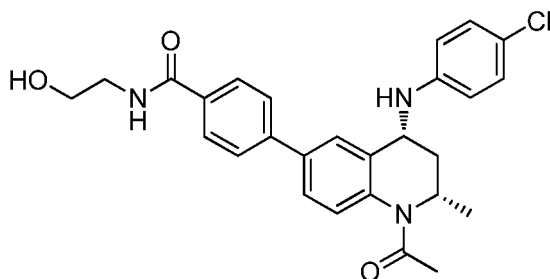


Se cargó un matraz con ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil}benzoico (para una preparación véase el Intermedio 18) (109 mg, 0,25 mmol), HOBT (45,9 mg, 0,300 mmol) y EDC (57,5 mg, 0,300 mmol), se añadió DCM (5 ml) y la mezcla resultante se trató con N-etilmorfolina (0,095 ml, 0,750 mmol). Después de 5 min, la solución de color amarillo pálido se trató con 2-amino-1,3-propanodiol (29,6 mg, 0,325 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de otras 4 h, se añadieron porciones adicionales de HOBT (22,95 mg, 0,150 mmol), EDC (28,75 mg, 0,150 mmol) y N-etil-morfolina (0,0475 ml, 0,375 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a t.a. Los compuestos volátiles se evaporaron al vacío y el residuo se disolvió en EtOAc y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado acuoso (2 veces), después con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM para proporcionar 4-((2S,4R)-1-acetil-4-[(4-clorofenil)amino]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil)-N-[2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]benzamida (66 mg, 0,130 mmol, rendimiento del 52 %) en forma de una espuma de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,95 min, MH+ = 508.

Los siguientes análogos se prepararon utilizando el procedimiento anterior utilizando la amina apropiada:-

Ejemplo 40

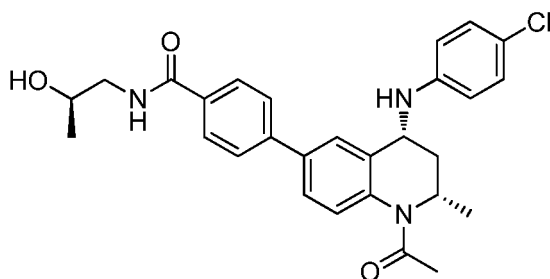
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxietil)benzamida



CLEM (H pH, 2 min), Tr = 1,00 min, MH+ = 478

5 Ejemplo 41

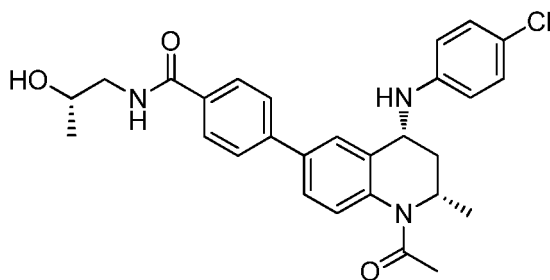
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*R*)-2-hidroxipropil)benzamida



CLEM (pH alto, 2 min), Tr = 1,03 min, MH+ = 492

10 Ejemplo 42

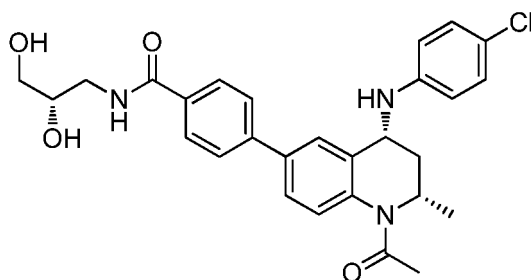
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*S*)-2-hidroxipropil)benzamida



CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,03 min, MH- = 490

15 Ejemplo 43

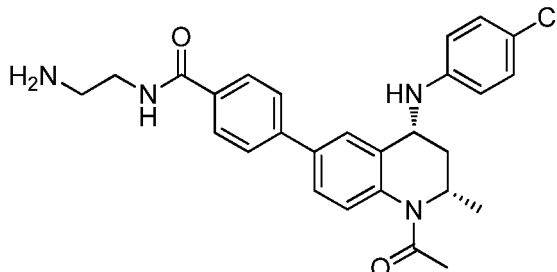
4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-((*S*)-2,3-dihidroxipropil)benzamida



CLEM (HpH, 2 min), Tr = 0,95 min, MH+ = 508

Ejemplo 44

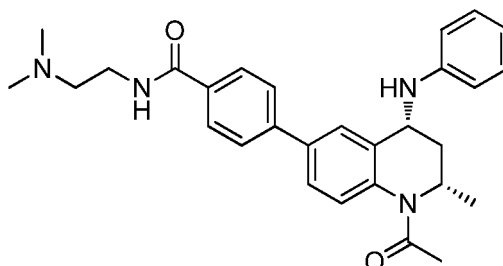
4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-aminoetil)benzamida



- 5 Una solución de (2-[[4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil]fenil)carbonil]amino}etil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (para una preparación véase el Intermedio 45) (57 mg, 0,099 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 ml) a temperatura ambiente se trató con cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (2 ml, 8,0 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h y después se concentró al vacío. El residuo se co-evaporó con Et₂O para proporcionar clorhidrato de 4-((2S,4R)-1-acetil-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil)-N-(2-aminoetil)benzamida (32,5 mg, 0,063 mmol, rendimiento del 64,1 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. CLEM (HpH, 2 min), Tr = 1,01 min, MH+ = 477.

Ejemplo 45

4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida

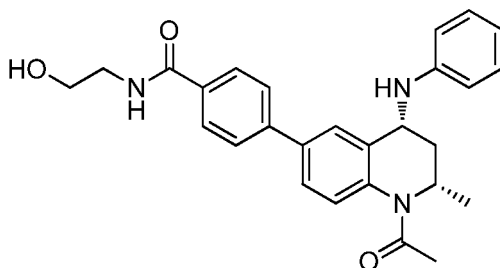


- 15 Se disolvió ácido 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico (para una preparación véase el Intermedio 35) (90 mg, 0,225 mmol) en DMF anhidro (3 ml) y se añadió HATU (103 mg, 0,270 mmol). Se añadió DIPEA (0,118 ml, 0,674 mmol) a la mezcla y después de otros 5 min de agitación a t.a., N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina (0,030 ml, 0,449 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante una noche, se concentró y se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo de color amarillo se purificó mediante cromatografía en un cartucho de sílice (10 g), eluyendo con MeOH/DCM (1-6 % más de 120 mls, seguido de 6-20 % en más de 120 mls) para proporcionar 4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)benzamida (24 mg, 0,05 mmol, rendimiento del 20 %) en forma de un sólido de color marrón claro. CLEM (fórmico, 2 min), Tr = 0,79 min, MH+ = 471.

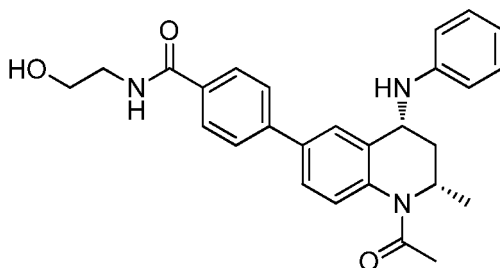
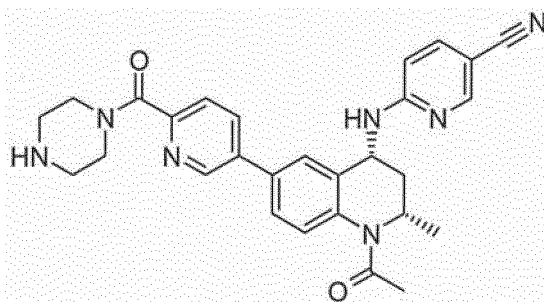
Análogos preparados mediante el procedimiento anterior utilizando la amina apropiada:-

Ejemplos 46

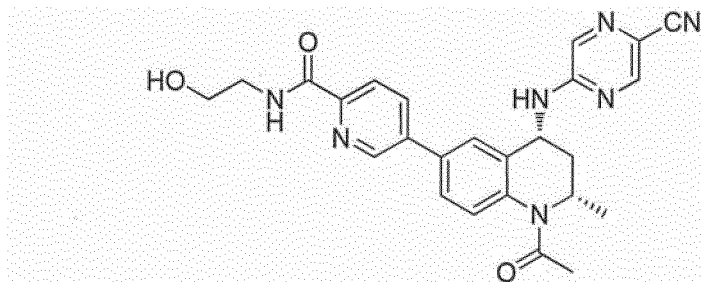
4-((2S,4R)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxietil)benzamida



CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,88 min, MH+ = 444

Ejemplo 47**4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida**CLEM (Formiato, 2 min), Tr = 0,82 min, MH⁺ = 474.**5 Ejemplo de Referencia 48****6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil)-6-(6-(piperazina-1-carbonil)piridin-3-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo**

Se disolvió 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolinilo)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (para una preparación véase el Intermedio 44) (205 mg, 0,344 mmol), en DCM anhidro (4 ml). Se añadió TFA (1 ml, 12,98 mmol) a cada mezcla de reacción, que se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 7,5 h. La mezcla de reacción se concentró y se cargó en un cartucho SCX (5 g, pre-acondicionado con MeOH). El cartucho se lavó con MeOH (40 ml) seguido de amoníaco en MeOH (2 M) y la fracción de amoníaco metanólico se concentró. El residuo se cargó sobre un cartucho de sílice (10 g) y el cartucho se lavó con MeOH al 10 %/DCM, seguido de amoníaco 2 M al 10 % en MeOH/DCM. Las fracciones apropiadas se concentraron, el residuo se volvió a disolver en MeOH (1 ml) se trató con 1,1 equivalentes de cloruro de hidrógeno en éter dietílico (1 M). La trituración con éter proporcionó 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(fenilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)benzamida, clorhidrato en forma de un sólido de color naranja (57 mg, 26,5 %). CLEM (formiato, 2 min) Tr = 0,60 min, 83 %, MH⁺ a 496

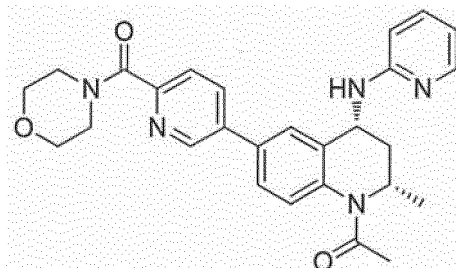
Ejemplo 49**5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxi-etil)picolinamida**

Se combinaron ácido 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)picolínico (para una preparación véase el Intermedio 53) (100 mg, 0,233 mmol), HATU (177 mg, 0,467 mmol) y DIPEA (0,122 ml, 0,700 mmol) en DMF (3 ml) y se agitaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió 2-aminoetanol (0,029 ml, 0,350 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1,5 h. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar 5-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopirazin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)-*N*-(2-hidroxi-etil)picolinamida (42 mg, 0,089 mmol, rendimiento del 38 %). CLEM: (formiato,

2 min), Tr = 0,73 min, MH+ = 472

Ejemplo de referencia 50

1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 56) (40 mg, 0,101 mmol), 2-bromopiridina (0,019 ml, 0,203 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2 amina (8,0 mg, 0,020 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (9,3 mg, 10,1 μmol) y *tert*-butóxido de sodio (19,5 mg, 0,203 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml), se desgasicaron durante un periodo de 15 minutos y se calentaron con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. Se añadió una porción adicional de tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (9,3 mg, 10,1 μmol), la reacción se desgasicó y se calentó la mezcla con irradiación de microondas a 120 °C durante 20 minutos.

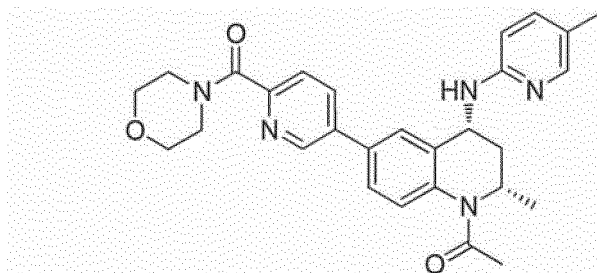
En un vial separado, se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 56) (25 mg, 0,063 mmol), 2-bromopiridina (0,012 ml, 0,127 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (5,0 mg, 0,013 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (5,8 mg, 6,34 μmol) y *tert*-butóxido de sodio (12,2 mg, 0,127 mmol) en 1, 4-dioxano (1 ml), se desgasicaron durante un periodo de 15 minutos y se calentaron con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos.

Las dos mezclas de reacción en bruto se combinaron y se repartieron entre solución ac. de bicarbonato de sodio (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío.

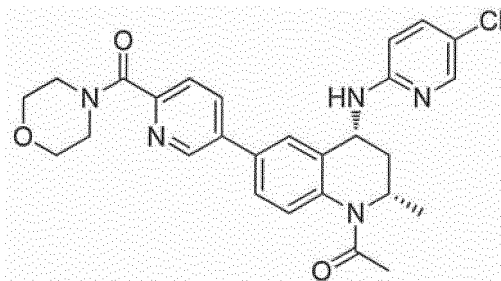
El residuo se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (36 mg, 0,076 mmol, rendimiento del 75 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,56 min, MH+ = 472.

Ejemplo de Referencia 51

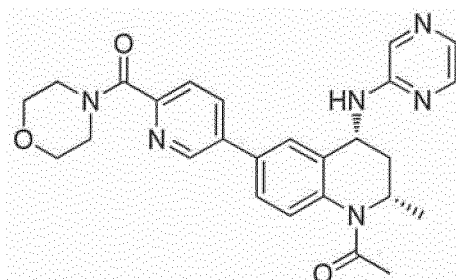
1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (80 mg, 0,203 mmol), 2-bromo-5-metilpiridina (69,8 mg, 0,406 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (16,0 mg, 0,041 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (18,6 mg, 0,020 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (39,0 mg, 0,406 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). La mezcla se desgasicó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 30 minutos. La mezcla se repartió entre solución ac. de bicarbonato de sodio (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (13 mg, 0,027 mmol, rendimiento del 13 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,58 min, MH+ = 486.

Ejemplo de referencia 52**1-((2*S*,4*R*)-4-((5-cloropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

- 5 Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (80 mg, 0,203 mmol), 2-bromo-5-cloropiridina (78 mg, 0,406 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (16,0 mg, 0,041 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (18,6 mg, 0,020 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (27,3 mg, 0,284 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C
- 10 durante 15 minutos. La mezcla se repartió entre solución ac. de bicarbonato de sodio (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((5-cloropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (54 mg, 0,107 mmol, rendimiento del 53 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,86 min, MH⁺ = 506.

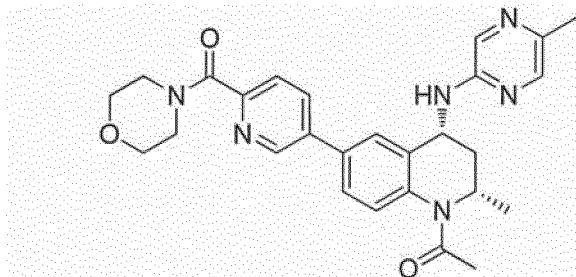
15 Ejemplo de Referencia 53**1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-4-(pirazin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

- 20 Se disolvieron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (80 mg, 0,203 mmol), 2-cloropirazina (0,036 ml, 0,406 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (16,0 mg, 0,041 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (18,6 mg, 0,020 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (27,3 mg, 0,284 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). La mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla se repartió entre solución ac. de bicarbonato de sodio (50 ml) y DCM (50 ml, 3
- 25 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-4-(pirazin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (50 mg, 0,106 mmol, rendimiento del 52 %).
- CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,68 min, MH⁺ = 473.

30

Ejemplo de Referencia 54

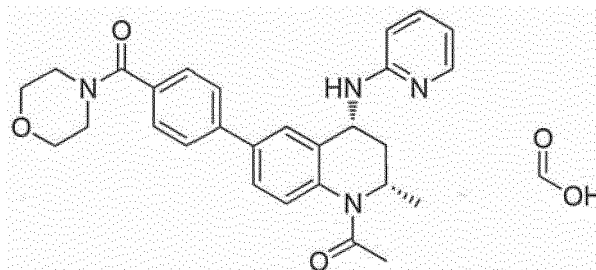
1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpirazin-2-il)amino)-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



- 5 Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil 6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (80 mg, 0,203 mmol), 2-bromo-5-metilpirazina (70,2 mg, 0,406 mmol), 2'-(diclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (16,0 mg, 0,041 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (18,6 mg, 0,020 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (27,3 mg, 0,284 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). La mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla se repartió entre solución ac. de bicarbonato de sodio (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por MDAP (HpH), seguido de purificación adicional por MDAP (formiato) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpirazin-2-il)amino)-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (26 mg, 0,053 mmol, rendimiento del 26 %).
- 15 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,71 min, MH⁺ = 487.

Ejemplo de Referencia 55

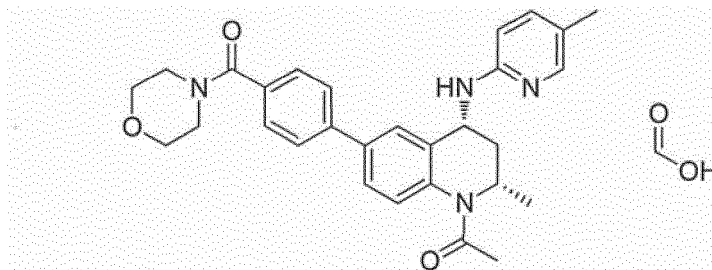
Formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(4-(morfolina-4-carbonil)fenil)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



- 20 Se trataron 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio (para una preparación véase el Intermedio 58) en bruto (40 mg) y HATU (41 mg, 0,108 mmol) en DMF (0,5 ml) con DIPEA (51,2 µl, 0,294 mmol) y la mezcla se agitó y se sometió a ultrasonidos hasta que se formó una solución (<2 min). Esta solución se añadió a morfolina (17 µl, 0,194 mmol), la mezcla se agitó brevemente y después se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió una porción adicional de morfolina (34 µl, 0,388 mmol) y la mezcla se dejó reposar durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo tres veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(4-(morfolina-4-carbonil)fenil)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (20 mg, 0,039 mmol, rendimiento del 10 %) en forma de un cristal de color rosa pálido.
- 25 CLEM: (formiato, 2 min), Tr 0,63 min, MH⁺ 471.
- 30

Ejemplo de referencia 56

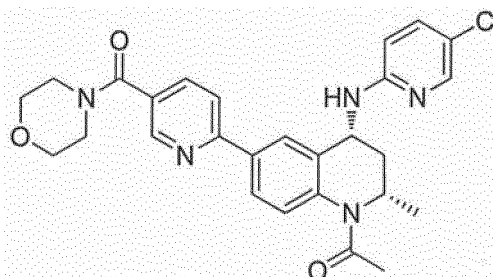
Formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(4-(morfolina-4-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



- 5 Una mezcla de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de de litio (para una preparación véase el Intermedio 60) en bruto (48 mg) y HATU (48 mg, 0,316 mmol) en DMF (0,5 ml) se trató con DIPEA (0,06 ml, 0,344 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min para proporcionar una solución que se añadió a morfolina (51 µl, 0,583 mmol). La mezcla se agitó brevemente y después se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La solución resultante se diluyó con agua y se deja reposar durante ~10 min. El precipitado resultante se aisló por filtración y se lavó con agua. El precipitado aislado se disolvió en MeOH, se concentró a sequedad para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(4-(morfolina-4-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona en forma de un vidrio de color amarillo pálido (24 mg, 0,045 mmol, rendimiento del 8 %).
- 15 CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 0,66 min, MH+ 485.

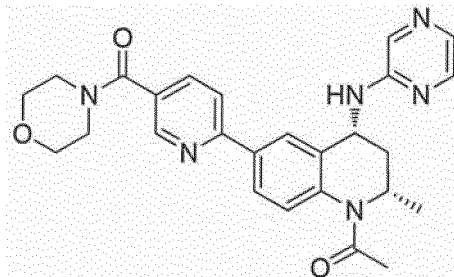
Ejemplo de referencia 57

1-((2*S*,4*R*)-4-((5-cloropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona

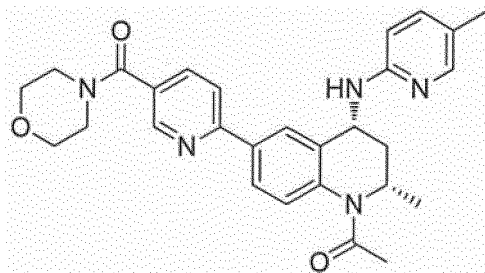


- 20 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (100 mg, 0,232 mmol), 2-bromo-5-cloropiridina (89 mg, 0,464 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (18,3 mg, 0,046 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (21,3 mg, 0,023 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (44,6 mg, 0,464 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. Una porción adicional de 2-bromo-5-cloropiridina (89 mg, 0,464 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (18,3 mg, 0,046 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (21,3 mg, 0,023 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (44,6 mg, 0,464 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se añadieron y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((5-cloropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (34 mg, 0,067 mmol, rendimiento del 29 %) CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,83 min, MH+ 506.

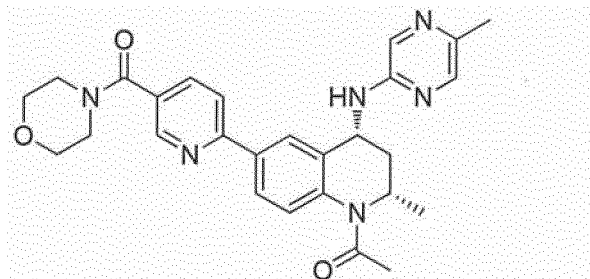
35

Ejemplo de referencia 58**1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-4-(pirazin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

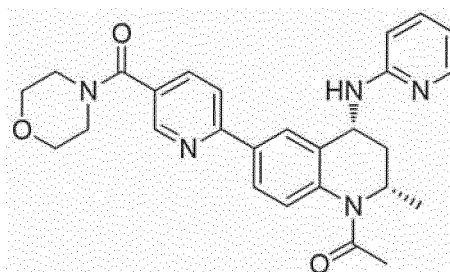
- 5 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (100 mg, 0,232 mmol), 2-cloropirazina (0,041 ml, 0,464 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (18,3 mg, 0,046 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (21,3 mg, 0,023 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (44,6 mg, 0,464 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C, durante 25 minutos. Una porción adicional de 2-cloropirazina (0,041 ml, 0,464 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (18,3 mg, 0,046 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (21,3 mg, 0,023 mmol), *tert*-butóxido de sodio (44,6 mg, 0,464 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se añadieron y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-4-(pirazin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (40 mg, 0,085 mmol, rendimiento del 37 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,68 min, MH+ 473

20 Ejemplo de Referencia 59**1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

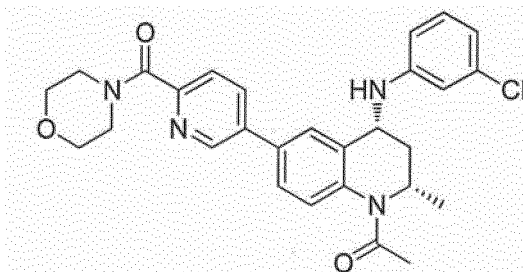
- 25 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (80 mg, 0,186 mmol), 2-bromo-5-metilpiridina (63,9 mg, 0,371 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (14,6 mg, 0,037 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (17 mg, 0,019 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (53,5 mg, 0,557 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 130 °C durante 50 minutos. Una porción adicional de 2-bromo-5-metilpiridina (63,9 mg, 0,371 mmol), 2'-(diciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (14,6 mg, 0,037 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (17 mg, 0,019 mmol), *tert*-butóxido de sodio (53,5 mg, 0,557 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se añadieron y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 130 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (38 mg, 0,078 mmol, rendimiento del 42 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,58 min, MH+ 486.

Ejemplo de referencia 60**1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpirazin-2-il)amino)-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

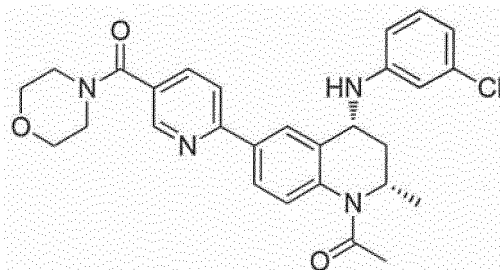
- 5 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (100 mg, 0,232 mmol), 2-bromo-5-metilpirazina (80 mg, 0,464 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (27,4 mg, 0,070 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (42,5 mg, 0,046 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (66,9 mg, 0,696 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 130 °C durante 40 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpirazin-2-il)amino)-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (38 mg, 0,078 mmol, rendimiento del 34 %). CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 0,71 min, MH+ 487

Ejemplo de Referencia 61**1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

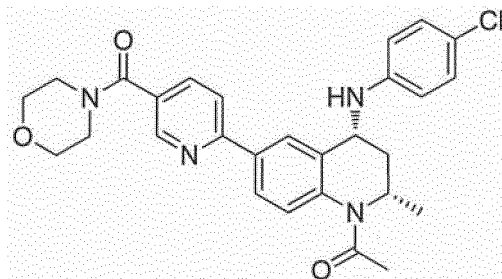
- 20 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (100 mg, 0,232 mmol), 2-bromopiridina (0,044 ml, 0,464 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (18,3 mg, 0,046 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (21,3 mg, 0,023 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (66,9 mg, 0,696 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 130 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se disolvió en acetonitrilo (20 ml) y bicarbonato de amonio ac. 0,1 M (20 ml). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-4-(piridin-2-ilamino)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (41 mg, 0,087 mmol, rendimiento del 38 %). CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,55 min, MH+ 472

Ejemplo de Referencia 62**1-((2*S*,4*R*)-4-((3-clorofenil)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

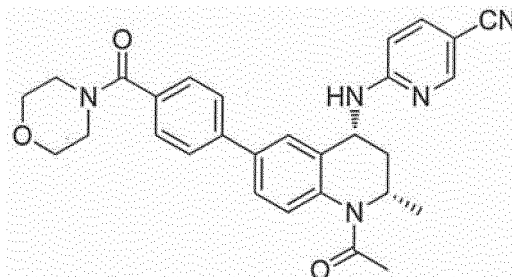
- 5 Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (100 mg, 0,254 mmol), 1-bromo-3-clorobenceno (0,060 ml, 0,507 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (20,0 mg, 0,051 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (23,3 mg, 0,025 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (34,1 mg, 0,355 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 ml). La mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla se repartió entre agua (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((3-clorofenil)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (58 mg, 0,115 mmol, rendimiento del 45 %).
- 15 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 1,00 min, MH+ = 505

Ejemplo de referencia 63**1-((2*S*,4*R*)-4-((3-clorofenil)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

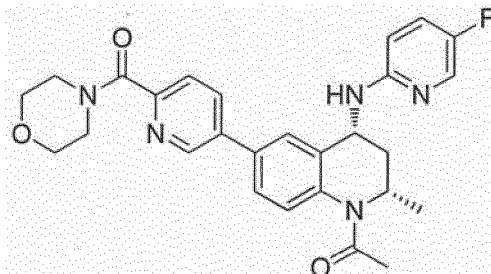
- 20 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (120 mg, 0,278 mmol), 1-bromo-3-clorobenceno (0,065 ml, 0,557 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (21,9 mg, 0,056 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (25,5 mg, 0,028 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (37,5 mg, 0,390 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre agua (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((3-clorofenil)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (13 mg, 0,026 mmol, rendimiento del 9,2 %).
- 30 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 1,00 min, MH+ 505.

Ejemplo de referencia 64**1-((2*S*,4*R*)-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

- 5 Se combinaron clorhidrato de 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación véase el Intermedio 65) (120 mg, 0,278 mmol), 1-bromo-4-clorobenceno (107 mg, 0,557 mmol), 2'-(diclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (21,9 mg, 0,056 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (25,5 mg, 0,028 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (37,5 mg, 0,390 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos, antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre agua (50 ml) y DCM (50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (HpH) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((4-clorofenil)amino)-2-metil-6-(5-(morfolina-4-carbonil)piridin-2-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (15 mg, 0,030 mmol, rendimiento del 10,7 %).
- 15 CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 1,00 min, MH⁺ = 505.

Ejemplo de Referencia 65**6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(4-(morfolina-4-carbonilo)fenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo**

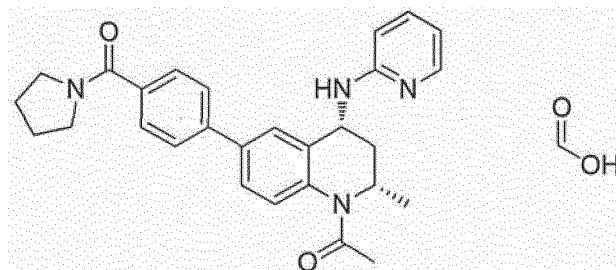
- 20 Se trató el ácido 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoico de litio en bruto (Intermedio 67) (55 mg) y HATU (53 mg, 0,140 mmol) en DMF anhidro (1 ml) con DIPEA (67,5 µl, 0,388 mmol). La mezcla se sometió a ultrasonidos brevemente para proporcionar una solución, a la que se añadió morfolina (110 µl, 1,26 mmol). La solución se dejó a temperatura ambiente durante la noche y después se diluyó con agua a ~10 ml. La mezcla se diluyó adicionalmente con salmuera y se extrajo con DCM/EtOAc y después EtOAc.
- 25 Las fracciones orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron a sequedad en una corriente de nitrógeno. El residuo resultante se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar 6-(((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-6-(4-(morfolina-4-carbonil)fenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il)amino)nicotinonitrilo (26 mg, 0,052 mmol) en forma de un vidrio incoloro. CLEM; (Formiato, 2 min) Tr = 0,85 min, MH⁺ 496.

Ejemplo de referencia 66**1-((2*S*,4*R*)-4-((5-fluoropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**

- 5 Se combinaron 1-((2*S*,4*R*)-4-amino-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (para una preparación, véase el Intermedio 56) (145 mg, 0,368 mmol), 2-bromo-5-fluoropiridina (129 mg, 0,735 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (29 mg, 0,074 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (34 mg, 0,037 mmol) y *tert*-butóxido de sodio (71 mg, 0,739 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). La mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 30 minutos. Una porción adicional de 2-bromo-5-fluoropiridina (129 mg, 0,735 mmol), 2'-(díciclohexilfosfino)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-amina (29 mg, 0,074 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (34 mg, 0,037 mmol) se añadieron, la mezcla se desgasificó durante un periodo de 15 minutos antes de que se calentara con irradiación de microondas a 120 °C durante 30 minutos. La mezcla se repartió entre agua (20 ml) y DCM (15 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía (columna de 25 g, (gradiente de MeOH/DCM) para proporcionar 1-((2*S*,4*R*)-4-((5-fluoropiridin-2-il)amino)-2-metil-6-(6-(morfolina-4-carbonil)piridin-3-il)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (91 mg, 0,186 mmol, rendimiento del 51 %) CLEM: (Formiato, 2 min), Tr = 0,73 min, MH+ 490.

Ejemplo de referencia 67

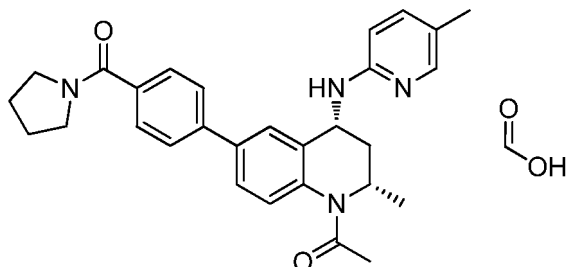
- 20 **Formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-6-(4-(pirrolidin-1-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona**



- 25 Se trataron 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio en bruto (para una preparación véase el Intermedio 58) (40 mg) y HATU (41 mg, 0,108 mmol) en DMF (0,5 ml) con DIPEA (51,2 µl, 0,294 mmol) y la mezcla se agitó y se sometió a ultrasonidos hasta que se formó una solución (<2 min). Esta solución se añadió a pirrolidina (16 µl, 0,192 mmol), la mezcla se agitó brevemente y después se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió una porción adicional de morfolina (32 µl, 0,384 mmol) y la mezcla se dejó reposar durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo tres veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron pasando a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-(piridin-2-ilamino)-6-(4-(pirrolidin-1-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (23 mg, 0,046 mmol, 12 %) en forma de un cristal de color rosa pálido. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,70 min, MH+ 455

Ejemplo de Referencia 68

Formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(4-(pirrolidina-1-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona



- 5 Una mezcla de 4-((2*S*,4*R*)-1-acetil-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)benzoato de litio en bruto (para una preparación véase el Intermedio 60) (48 mg) y HATU (48 mg, 0,316 mmol) en DMF (0,5 ml) se trató con DIPEA (0,06 ml, 0,344 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min para proporcionar una solución que se añadió a pirrolidina (48 µl, 0,575 mmol). La mezcla se agitó brevemente y después se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La solución resultante se diluyó con agua y se dejó reposar durante
- 10 ~10 min. El precipitado resultante se aisló por filtración y se lavó con agua. El precipitado aislado se disolvió en MeOH se concentró a sequedad para proporcionar un residuo que se purificó por MDAP (formiato) para proporcionar formiato de 1-((2*S*,4*R*)-2-metil-4-((5-metilpiridin-2-il)amino)-6-(4-(pirrolidin-1-carbonil)fenil)-3,4-dihidroquinolin-1(2*H*)-il)etanona (22 mg, 0,047 mmol, 7,5 %) en forma de un cristal de color amarillo pálido. CLEM: (formiato, 2 min), Tr = 0,73 min, MH+ 469.

15 COMPUESTOS DE REFERENCIA

Los detalles experimentales de los procedimientos de CL-EM A-F que se refieren en el presente documento son como se indican a continuación:

- 20 La CL/EM (Procedimiento A) se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm x 2,1 mm, diámetro del relleno 1,7 µm) a 40 grados centígrados, eluyendo con bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustada a pH 10 con solución de amoníaco (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B) utilizando el siguiente gradiente de elución 0-1,5 min 1-97 % de B, 1,5-1,9 min 97 % de B, 1,9-2,0 min 100 % de B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ utilizando exploración alterna por electronebulización positiva y negativa. Los datos de ionización se redondearon al entero más cercano.

- 25 La CL/EM (Procedimiento B) se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm x 2,1 mm, diámetro del relleno 1,7 µm) a 40 grados centígrados, eluyendo con solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (disolvente A) y al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (disolvente B) utilizando el siguiente gradiente de elución 0-1,5 min 3-100 % de B, 1,5-1,9 min 100 % de B, 1,9-2,0 min 3 % de B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ utilizando exploración alterna por electronebulización positiva y negativa. Los datos de ionización se redondearon al entero más cercano.

- 30 La CL/EM (Procedimiento C) se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm x 2,1 mm, diámetro del relleno 1,7 µm) a 40 grados centígrados, eluyendo con solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua (disolvente A) y solución al 1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (disolvente B) utilizando el siguiente gradiente de elución 0-1,5 min 3-100 % de B, 1,5-1,9 min 100 % de B, 1,9-2,0 min 3 % de B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ utilizando electronebulización positiva. Los datos de ionización se redondean al entero más cercano.

- 35 La CL/EM (Procedimiento D) se realizó en una columna Supelcosil LCABZ + PLUS (3 µm, DI de 3,3°cm x 4,6°mm) eluyendo con HCO₂H al 0,1 % y acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 95 % y HCO₂H al 0,05 % en agua (disolvente B), utilizando el siguiente gradiente de elución 0-0,7 minutos 0 % de B, 0,7-4,2 minutos 0 → 100 % de B, 4,2-5,3 minutos 100 % de B, 5,3-5,5 minutos 100 → 0 % de B a un caudal de 3 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Fisons VG Platform utilizando el modo de ionización por electronebulización positiva [(EN+ para proporcionar iones moleculares [M+H]⁺ y [M+NH₄]⁺) o de ionización por electronebulización negativa [(EN- para proporcionar iones moleculares [M-H]⁻]. Los datos analíticos de este aparato se proporcionan con el siguiente formato: [M+H]⁺ o [M-H]⁻.

La CL/EM (Procedimiento E) se realizó en una columna Chromolith Performance RP 18 (DI de 100 x 4,6 mm) eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y 100 % de acetonitrilo (disolvente B), utilizando el siguiente gradiente de elución 0-4 minutos 0-100 % de B, 4-5 minutos 100 % de B a un caudal de 5 ml/minuto.

Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Micromass Platform-LC utilizando los modos de ionización positiva química a presión atmosférica [AP+ para proporcionar iones moleculares MH⁺] o ionización negativa química a presión atmosférica [AP- para proporcionar iones moleculares (M-H)⁻]. Los datos analíticos de este se proporcionan con el siguiente formato: [M+H]⁺ o [M-H]⁻.

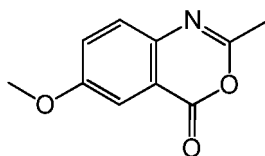
La CL/EM (Procedimiento F) se realizó en una columna Sunfire C18 (d.i. de 30°mm x 4,6°mm, diámetro de relleno de 3,5 µm) a 30 grados centígrados, eluyendo con una solución de ácido trifluoroacético al 0,1 % v/v en agua (disolvente A) y solución de ácido trifluoroacético al 0,1 % v/v en acetonitrilo (disolvente B) utilizando el siguiente gradiente de elución 0-0,1 min 3 % de B, 0,1-4,2 min 3-100 % de B, 4,2-4,8 min 100 % de B, 4,8-4,9 min 100-3 % de B, 4,9-5,0 min 3 % de B a un caudal de 3 ml/min de caudal. La detección de UV fue una señal promedio de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electronebulización positiva. Los datos de ionización se redondearon al entero más cercano.

La CL/EM (Procedimiento G) se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (d.i. de 50 mm x 2,1 mm, diámetro de relleno de 1,7 µm) a 40 grados centígrados, eluyendo con solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (disolvente A) y solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (disolvente B) utilizando el siguiente gradiente de elución 0-1,5 min 1-97 % de B, 1,5-1,9 min 97 % de B, 1,9-2,0 min del 97 al 100 % B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitudes de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ utilizando exploración alterna por electronebulización positiva y negativa. Los datos de ionización se redondearon al entero más cercano.

CL/EMAR: La HPLC analítica se realizó en una columna Uptisphere-HSC (3 µm, DI de 33 × 3°mm) eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 100 % (disolvente B), utilizando el siguiente gradiente de elución 0-0,5 minutos 5 % de B, 0,5-3,75 minutos 5 → 100 % de B, 3,75-4,5 100 % de B, 4,5-5 100 → 5 % de B, 5-5,5 5 % de B a un caudal de 1,3 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Micromass LCT utilizando el modo de ionización por electronebulización positiva [EN+ para proporcionar iones moleculares MH⁺] o de ionización por electronebulización negativa [EN- para proporcionar iones moleculares (M-H)⁻].

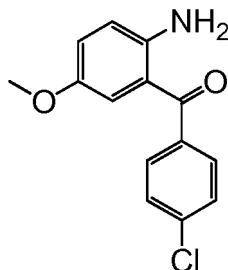
La cromatografía en capa fina (TLC) se refiere al uso de placas de TLC comercializadas por Merck recubiertas de gel de sílice 60 F254.

Compuesto de Referencia A: 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona



Una solución de ácido 5-metoxiantranílico (Lancaster) (41,8 g, 0,25 mol) se calentó a reflujo en anhídrido acético (230 ml) durante 3,5 h antes de concentrarse a presión reducida. El compuesto en bruto se concentró dos veces en presencia de tolueno antes de filtrarse y se lavó dos veces con éter para proporcionar el compuesto del título (33,7 g, rendimiento del 71 %) en forma de un sólido de color marrón; CL/EM (Procedimiento D): m/z 192 [M+H]⁺, Tr 1,69 min.

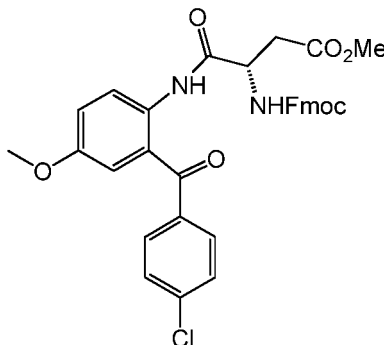
Compuesto de Referencia B: [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona



A una solución de 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona (para una preparación véase el compuesto de referencia A) (40,0 g, 0,21 mol) en una mezcla de tolueno/éter (2/1) (760 ml) a 0 °C, se le añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-clorofenil-magnesio (170 ml, 1 M en Et₂O, 0,17 mol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h antes de inactivarse con HCl 1 N (200 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (150 ml, 3 veces) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto en bruto se disolvió en EtOH (400 ml) y se añadió HCl 6 N (160 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h antes de concentrarse

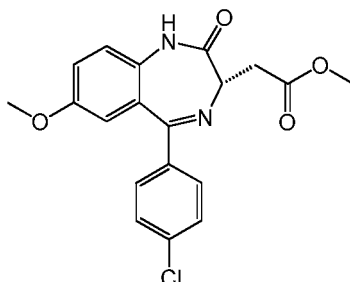
a un tercio de su volumen. El sólido resultante se filtró y se lavó dos veces con éter antes de suspenderse en EtOAc y se neutralizase con NaOH 1 N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (150 ml, 3 veces) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido de color amarillo (39 g, rendimiento del 88 %); CL/EM (Procedimiento D): m/z 262 [M+H]⁺, Tr 2,57 min.

Compuesto de referencia C: N¹-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N²-{[(9H-fluoren-9-il-metil)oxi]carbonil}-L-α-asparaginato de metilo



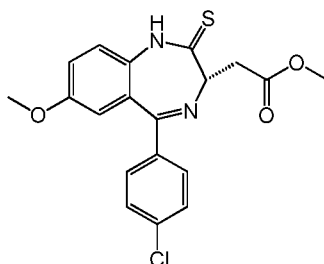
Se disolvió cloruro de metil N-[[[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil]L-α-aspartilo (*Int. J. Peptide Protein Res.* 1992, 40, 13-18) (93 g, 0,24 mol) en CHCl₃ (270 ml) y se añadió [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona (para una preparación véase el compuesto de Referencia B) (53 g, 0,2 mol). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 1 h antes de enfriarse y concentrarse al 60 % en volumen. Se añadió éter a 0 °C y el precipitado resultante se filtró y se desechó. El filtrado se concentró a presión reducida y se usó sin purificación adicional.

Compuesto de Referencia D: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



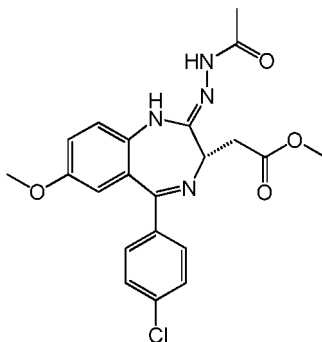
A una solución de N1-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N2-[[[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil]-L-α-asparaginato de metilo (para una preparación, véase el compuesto de Referencia C) (0,2 mol supuestos) en DCM (500 ml) se le añadió Et₃N (500 ml, 3,65 mol) y la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 24 h antes de concentrarse. La amina en bruto resultante se disolvió en 1,2-DCE (1,5 l) y se añadió AcOH (104 ml, 1,8 mol) cuidadosamente. La mezcla de reacción se agitó entonces a 60 °C durante 2 h antes de concentrarse al vacío y se disolviese en DCM. La fase orgánica se lavó con HCl 1 N y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El sólido en bruto se recrystalizó en MeCN conduciendo al compuesto del título (51 g) en forma de un sólido de color amarillo pálido. El filtrado podía concentrarse y recrystalizare en MeCN para proporcionar otros 10 g del producto deseado R_f = 0,34 (DCM/MeOH: 95/5). EMAR (M+H)⁺ calculado para C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₄ 373,0955; encontrado: 373,0957.

Compuesto de referencia E: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



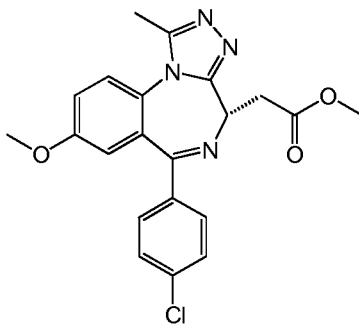
Una suspensión de P_4S_{10} (36,1 g, 81,1 mmol) y Na_2CO_3 (8,6 g, 81,1 mmol) en 1,2-DCE (700 ml) a temperatura ambiente se agitó durante 2 h antes de añadirse [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo (para una preparación véase el compuesto de referencia D) (16,8 g, 45,1 mmol). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 h antes de enfriarse y filtrarse. El sólido se lavó dos veces con DCM y el filtrado se lavó con $NaHCO_3$ sat. y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (DCM/MeOH: 99/1) para proporcionar el compuesto del título (17,2 g, rendimiento del 98 %) en forma de un sólido de color amarillento. CL/EM (Procedimiento D): m/z 389 [$M(^{35}Cl)^+H$] $^+$, Tr 2,64 min EMAR (M+H) $^+$ calculado para $C_{19}H_{18}^{35}ClN_2O_3S$ 389,0727; encontrado 389,0714.

Compuesto de Referencia F: [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazino]-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



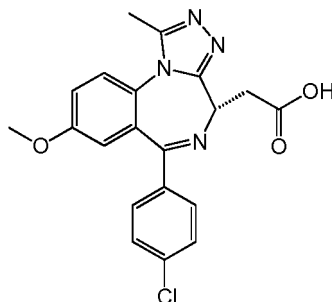
A una suspensión de [(3S)-[5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]-acetato de metilo (para una preparación véase el compuesto de Referencia E (9,0 g, 23,2 mmol) en THF (300 ml) a 0 °C se le añadió monohidrato de hidrazina (3,4 ml, 69,6 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante 5 h entre 5 °C y 15 °C antes de enfriarse a 0 °C. Después, se añadió Et_3N (9,7 ml, 69,6 mmol) lentamente y cloruro de acetilo (7,95 ml, 69,6 mmol) gota a gota. Después, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 16 h antes de concentrarse a presión reducida. El producto en bruto se disolvió en DCM y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (9,7 g, rendimiento del 98 %) que se usó sin purificación adicional. R_f = 0,49 (DCM/MeOH: 90/10).

Compuesto de Referencia G: [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de metilo



El [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazino]-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo en bruto (para una preparación, véase el compuesto de Referencia F) (9,7 g supuestos) se suspendió en THF (100 ml) y se añadió AcOH (60 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 2 días antes de concentrarse a presión reducida. El sólido en bruto se trituró en $i-Pr_2O$ y se filtró para proporcionar el compuesto del título (8,7 g, 91 % en 3 etapas) en forma de un sólido de color blanquecino. EMAR(M+H) $^+$ calculado para $C_{21}H_{20}ClN_4O_3$ 411,1229; encontrado 411,1245.

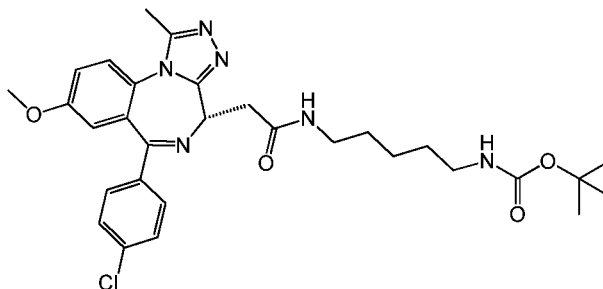
Compuesto de Referencia H: ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético



A una solución de [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de metilo (para una preparación véase el compuesto de referencia G) (7,4 g, 18,1 mmol) en THF (130 ml) se le añadió a temperatura ambiente NaOH 1 N (36,2 ml, 36,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 5 h antes de inactivarse con HCl 1 N (36,2 ml) y concentrarse al vacío. Después se añadió agua y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 veces) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (7 g, rendimiento del 98 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

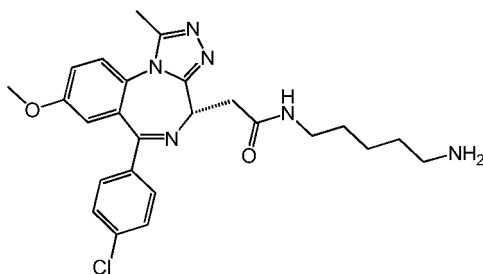
CL/EM (Procedimiento D): m/z 397 [M+H]⁺

Compuesto de referencia I: [5-({[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil}amino)pentil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



Una mezcla de ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético (para una preparación véase el compuesto de Referencia G) (1,0 g, 2,5 mmol), HATU (1,9 g, 5 mmol) y DIPEA (0,88 ml, 5 mmol) se agitó durante 80 minutos a temperatura ambiente, a esta se le añadió (4-aminobutil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,05 ml, 5,0 mmol, disponible en Aldrich). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h antes de concentrarse. El residuo se recogió en diclorometano y se lavó con HCl 1 N. La fase acuosa se extrajo con diclorometano dos veces. La fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1 N, seguido de una solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice utilizando diclorometano/metanol 95/5 para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,2 g). CL/EM (Procedimiento D): Tr = 3,04 min.

Compuesto de referencia J: trifluoroacetato de N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida



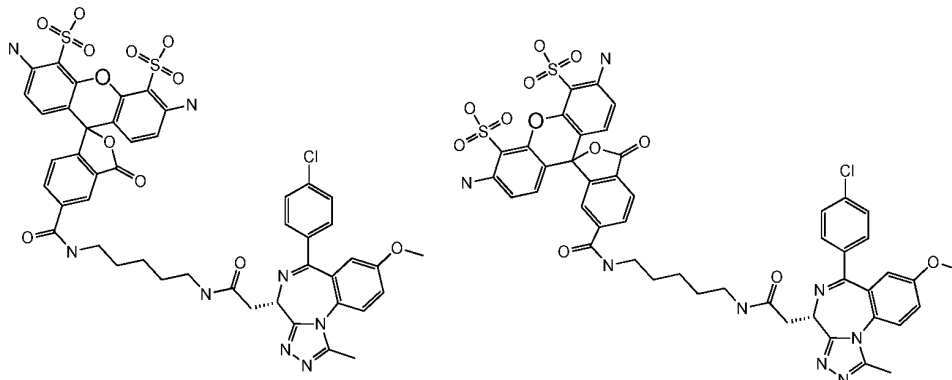
.TFA

A una solución de [5-({[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil}amino)pentil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (para una preparación, véase el compuesto de Referencia H) (0,2 g, 0,34 mmol) en diclorometano (3 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (0,053 ml, gota a gota 0,68 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h de 0 °C a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a sequedad para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite higroscópico de color amarillo

(200 mg) CL/EM (Procedimiento D): Tr = 2,33 min.

EMAR (M+H)⁺ calculado para C₂₅H₂₉ClN₆O₂ 481,2119; encontrado 481,2162.

Compuesto de Referencia K: mezcla de isómeros 5 y 6 de Flúor Alexa 488-N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida



5

Se disolvió trifluoroacetato de N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida (para una preparación, véase el Compuesto de Referencia J) (7,65 mg, 0,013 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (300 µl) y se añadió al éster succinimidílico del ácido carboxílico Flúor Alexa 488 (mg, 7,77 µmol, mezcla de isómeros 5 y 6, disponible de Invitrogen, número de producto A-20100) en un tubo de centrifuga Eppendorf. Se añadió base de Hunig (7,0 µl, 0,040 mmol) y la mezcla se mezcló agitando con formación de vórtice durante la noche. Después de 18 h la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMSO/agua (50 %, <1 ml total), se aplicó a una columna preparativa Phenomenex Jupiter C18 y se eluyó con un gradiente de 95 % de A:5 % de B a 100 % de B (A = ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua, B = TFA al 0,1 %/acetonitrilo al 90 %/agua al 10 %) a un caudal de 10 ml/min durante 150 minutos. Las fracciones impuras se combinaron y se volvió a purificar utilizando el mismo sistema. Las fracciones se combinaron y se evaporaron para proporcionar el producto del título (2,8 mg) en forma de una mezcla de los 2 regioisómeros que se muestran. CL/EM (Procedimiento F); MH⁺ = 999, Tr = 1,88 min.

Procedimientos de ensayo biológico

Ensayo de unión de anisotropía de fluorescencia

La unión de los compuestos de fórmula (I) a los Bromodominios BRD2, BRD3 y BRD4 se evaluó utilizando un ensayo de unión de anisotropía de fluorescencia.

Se incubaron juntos proteína Bromodominio, ligando fluorescente (compuesto de Referencia K, véase anteriormente) y una concentración variable del compuesto de ensayo para alcanzar el equilibrio termodinámico en condiciones de manera que en ausencia de compuesto de ensayo el ligando fluorescente esté significativamente (> 50 %) unido y en presencia de una concentración suficiente de un inhibidor potente, la anisotropía del ligando fluorescente sin unir sea diferente de forma medible del valor de unión.

Todos los datos se normalizaron a la media de 16 pocillos de control altos y 16 bajos en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^x / 10^c)^d))$$

En la "a" es el mínimo, "b" es la pendiente de Hill, "c" es el pCl50 y "d" es el máximo.

Se expresaron bromodominios humanos recombinantes (BRD2 (1-473), BRD3 (1-435) y BRD4 (1-477)) en células de *E. coli* (en un vector pET15b) con un marcador de seis His en el extremo N-terminal. El bromodominio marcado con His se extrajo de las células de *E. coli* utilizando 0,1 mg/ml de lisozima y ultrasonidos. El bromodominio se purificó después mediante cromatografía de afinidad en una columna HP HisTrAP, eluyendo con un gradiente lineal de imidazol 10-500mM, durante 20 VC. La purificación adicional se completó mediante la columna de exclusión por tamaño Superdex 200 de calidad preparativa. La proteína purificada se almacenó a -80 °C en HEPES 20 mM pH 7,5 y NaCl 100 mM.

Protocolo para el bromodominio BRD2: Todos los componentes se disolvieron en la composición tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de BRD2 de 75 nM, se añadió ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 µl de esta mezcla de reacción utilizando una micropipeta multipunto, a pocillos que contienen 100 nl de diversas concentraciones del compuesto de ensayo o del vehículo DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación Greiner de bajo volumen, de color negro, de 384 pocillos y se equilibró en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm,

λ_{EM} = 530 nm; dicroica -505 nm).

Protocolo para el bromodominio BRD3: Todos los componentes se disolvieron en la composición tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de BRD3 de 75 nM, se añadió ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 μ l de esta mezcla de reacción utilizando una micropipeta multipunto, a pocillos que contienen 100 nl de diversas concentraciones del compuesto de ensayo o del vehículo DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación Greiner de bajo volumen, de color negro, de 384 pocillos y se equilibró en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{EM} = 530 nm; dicroica -505 nm).

Protocolo para el bromodominio BRD4: Todos los componentes se disolvieron en la composición tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de BRD4 de 75 nM, se añadió ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 μ l de esta mezcla de reacción utilizando una micropipeta multipunto, a pocillos que contienen 100 nl de diversas concentraciones del compuesto de ensayo o del vehículo DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación Greiner de bajo volumen, de color negro, de 384 pocillos y se equilibró en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{EM} = 530 nm; dicroica -505 nm).

Ensayo de Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia de Tiempo Resuelto (TERF-TR)

La unión de los compuestos de fórmula (I) a los Bromodominios BRD2, BRD3 y BRD4 se evaluó utilizando un ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia de tiempo resuelto, que mide la unión de un péptido de histona acetilado a la proteína bromodominio.

La proteína bromodominio, un péptido de histona y una concentración variable del compuesto de ensayo se incubaron juntos para alcanzar el equilibrio termodinámico. El ensayo se configuró de manera que, en ausencia de compuesto de ensayo el bromodominio y el péptido se unieran de forma significativa (~30 %) y en presencia de una concentración suficiente de un inhibidor potente, esta interacción se interrumpiera conduciendo a una disminución medible en la transferencia de energía por resonancia fluorescente.

Péptido de histona:

H-Ser-Gly-Arg-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Lys(Ac)-Gly-Leu-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Ala-Lys(Ac)-Arg-His-Gly-Ser-Gly-Ser-Lys(Biotina)-OH. 3TFA

El péptido protegido se ensambló en un sintetizador de fase sólida utilizando una resina de Wang precargada y utilizando protocolos de síntesis de Fmoc convencionales. La lisina C-terminal se protegió mediante un grupo hiperlábil a los ácidos lo que permite su extracción selectiva en el extremo del conjunto y la unión de la biotina. El péptido en bruto se obtuvo después de la escisión de la resina con una mezcla de ácido trifluoroacético (TFA), triisopropilsilano y agua (95:2,5:2,5) durante 3 horas a temperatura ambiente y después se purificó usando una columna de fase inversa C18 utilizando un gradiente de agua tamponada con TFA al 0,1 %/acetonitrilo. Las fracciones resultantes se analizaron y las fracciones que tenían una pureza del > 95 % por HPLC analítica y que proporcionaban el pm correcto (por espectroscopía de masas MALDITOF) se agruparon y se liofilizaron. El material final se analizó por HPLC para confirmar la pureza.

Producción de las proteínas: Se expresaron bromodominios humanos recombinantes (BRD2 (1-473), BRD3 (1-435) y BRD4 (1-477)) en células de *E. coli* (en un vector pET15b) con un marcador de seis His en el extremo N-terminal. El bromodominio marcado con His se extrajo de las células de *E. coli* utilizando ultrasonidos y se purificó utilizando una columna Sepharose 6FF de níquel, las proteínas se lavaron y después se eluyeron con Tris 50 mM-HCl pH 8,0, NaCl 300 mM, β -mercaptoetanol 1 mM e imidazol 20 mM. La purificación adicional se realizó mediante cromatografía de afinidad en una columna HP HisTrap, eluyendo con un gradiente lineal de cloruro de sodio 0-500 mM, durante 20 volúmenes de columna. La purificación final se completó mediante la columna de exclusión por tamaño de calidad preparativa Superdex 200. La proteína purificada se almacenó a -80°C en HEPES 20 mM pH 7,5 y NaCl 100 mM. La identidad de las proteínas se confirmó mediante identificación genética por masas de péptidos y el peso molecular predicho se confirmó por espectrometría de masas.

Protocolo para los ensayos del Bromodominio BRD2, 3 y 4: Todos los componentes del ensayo se disolvieron en la composición tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 50 mM y CHAPS 0,5 mM. La concentración final de proteínas bromodominio era 100 nM y la del péptido de histona era 300 nM, estos componentes se mezclaron previamente y se dejaron equilibrar durante 1 hora en la oscuridad. Se añadieron 8 μ l de esta mezcla de reacción a todos los pocillos que contenían 50 nl de diversas concentraciones de compuesto de ensayo o vehículo DMSO (0,5 % final) en placas de microtitulación Greiner de bajo volumen, de color negro, de 384 pocillos y se incubaron en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 2 μ l de la mezcla de detección que contenía el anticuerpo anti-6his marcado con XL665 y estreptavidina marcada con criptato de europio, a todos los pocillos, y se realizó una incubación adicional en oscuridad de al menos 30 minutos. Las placas se leyeron en el lector de placas Envision, λ_{ex} = 317 nm, λ_{EM} del donador = 615 nm; λ_{EM} del aceptor = 655 nm; Dicroica LANCE dual). Se realizaron mediciones de intensidad de fluorescencia de tiempo resuelto en ambas longitudes de onda de emisión y la relación de aceptor/donante se calculó y se utilizó para el análisis de datos. Todos los datos se normalizaron a la media de

16 pocillos de control altos y 16 bajos en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^x / 10^c)^d))$$

En la "a" es el mínimo, "b" es la pendiente de Hill, "c" es el pCI50 y "d" es el máximo.

- 5 Los Ejemplos 1-68 se sometieron a ensayo en uno o más de los ensayos anteriores y se descubrió que tenían una pCI50 en el intervalo de 6,0 a 7,5. Se descubrió que los Ejemplos 1-5, 7, 10-19, 26, 28-31, 39-47, 49, 52 y 65 tenían una pCI50 en el intervalo de 7,0-7,5 en al menos uno de los ensayos anteriores.

Medición de la secreción de IL-6 de la sangre entera inducida por LPS

- 10 La activación de las células monocíticas por agonistas de los receptores tipo toll tales como el lipopolisacárido bacteriano (LPS) da como resultado la producción de mediadores inflamatorios clave incluyendo la IL-6. Se considera ampliamente que dichas vías son fundamentales en la fisiopatología de una gama de trastornos autoinmunes e inflamatorios.

- 15 Los compuestos que se iban a ensayar se diluyeron para proporcionar un intervalo de concentraciones apropiadas de los cuales se añadió 1 µl de las soluciones madre diluidas a los pocillos de una placa de 96 pocillos. Después de la adición de la sangre entera (130 µl) las placas se incubaron a 37 grados (5 % de CO₂) durante 30 min antes de la adición de 10 µl de LPS 2,8 ug/ml, diluido en RPMI 1640 completo (concentración final = 200 ng/ml), para proporcionar un volumen total de 140 µl por pocillo. Después de una incubación adicional durante 24 horas a 37 grados, se añadieron 140 µl de PBS a cada pocillo. Las placas se sellaron, se agitaron durante 10 minutos y después se centrifugaron (2500 rpm x 10 min). Se retiraron 100 µl del sobrenadante y se sometieron a ensayo los niveles de IL-6 mediante inmunoensayo (normalmente mediante la tecnología MesoScale Discovery), ya sea inmediatamente o después de un almacenamiento a -20 grados. Se generaron curvas de respuesta a la dosis para cada compuesto a partir de los datos y se calculó un valor de CI50.

- 20 Los Ejemplos 2, 3, 5-7, 9-12, 14-16, 19-25, 28-32, 34, 37, 38, 40, 42, 44-46, 48-49, 51- 52, 54, 56-65 y 68 se sometieron a ensayo en el ensayo anterior y se descubrió que tenían una pCI50 en el intervalo de 5,5-7,3..
- 25 Estos datos demuestran que los inhibidores de bromodominio sometidos a ensayo en el ensayo de sangre completa anterior inhibieron la producción del mediador inflamatorio clave IL-6.

Modelo de endotoxemia en ratón in vivo

- 30 Las altas dosis de endotoxina (lipopolisacárido bacteriano) administradas a los animales produjeron un síndrome de choque profundo que incluyó una fuerte respuesta inflamatoria, la disregulación de la función cardiovascular, la insuficiencia de los órganos y en última instancia la muerte. Este patrón de respuesta es muy similar a la sepsis y al choque séptico humanos, en los que la respuesta del cuerpo a una infección bacteriana significativa puede ser potencialmente mortal de manera similar.

- 35 Para someter a ensayo los compuestos para su uso en la invención, a grupos de ocho ratones macho Balb/c se les proporcionó una dosis letal de LPS 15 mg/kg por inyección intraperitoneal. Noventa minutos más tarde, a los animales se les administró por vía intravenosa vehículo (ciclodextrina al 20 % etanol al 1 % en agua apirógena) o compuesto (10 mg/kg). La supervivencia de los animales se controló en 4 días.

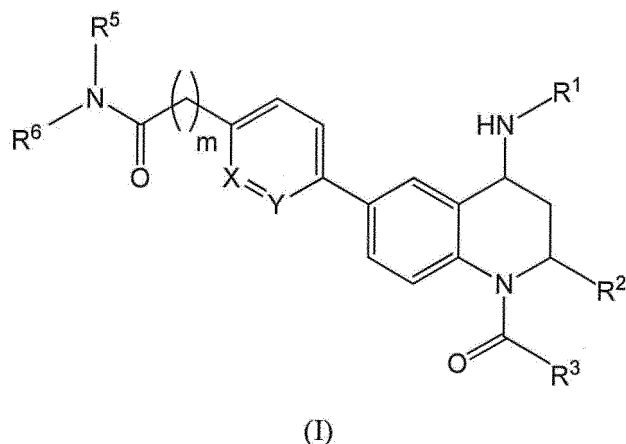
Ensayo de Crecimiento Oncológico

- 40 Se cultivaron estirpes celulares humanas (n = 33 que comprende 15 estirpes celulares de hemo, 14 estirpes celulares de mama y otras 4 estirpes celulares) en RPMI-1640 que contenía suero bovino fetal al 10 %, se sembraron 1000 células viables por pocillo en placas de 384 pocillos de color negro de fondo plano de poliestireno (Greiner n.º 781086) en 48 µl de medio de cultivo. Todas las placas se colocaron en 5 % de CO₂, 37 °C durante la noche. El siguiente día se recolectó una placa con CellTiter-Glo (CTG, Promega n.º G7573) para una medida a tiempo igual a 0 (T0) y se añadió compuesto (titulación de 20 puntos de 14,7 uM a 7 pM) a las placas restantes. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue del 0,15 %. Las células se incubaron durante 72 horas o el tiempo indicado y cada placa se reveló con el reactivo CellTiter-Glo utilizando un volumen equivalente al volumen de cultivo celular de los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente 2 minutos y la señal quimioluminiscente se leyó en el Analyst GT (Molecular Devices) o el Lector de Placas EnVision (Perkin Elmer).

- 45 Los resultados se expresaron como un porcentaje de la T0 y se representaron frente a la concentración del compuesto. El valor de T0 se normalizó al 100 % y representaba el número de células en el momento de la adición del compuesto y los datos de respuesta a la concentración se ajustaron con un ajuste de curva de 4 parámetros utilizando el software XLfit (modelo 205). La concentración que inhibía el crecimiento celular en un 50 % (cCI₅₀) era el punto medio de la "ventana de crecimiento" (entre el T0 y el control de DMSO). El valor Ymin-T0 se determinó restando el valor T0 (100 %) del valor Ymin (%) determinado a partir del ajuste de la curva de respuesta a la concentración. Los valores de los pocillos sin células se restaron de todas las muestras para la corrección de fondo.

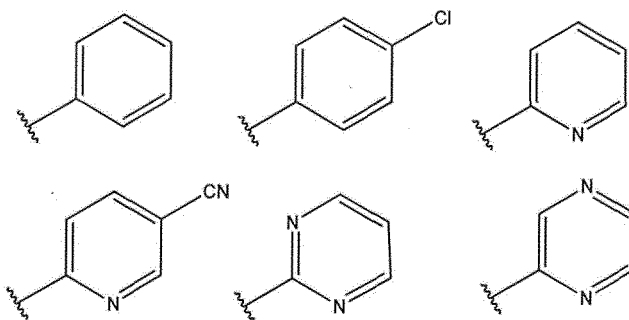
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo

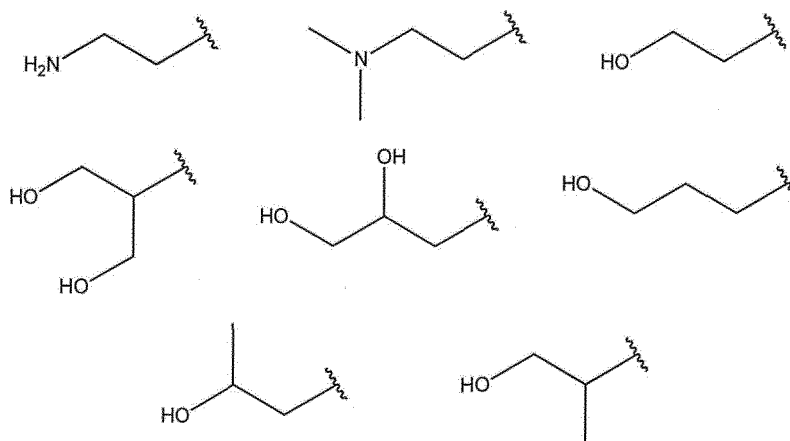


en la que

- 5 X e Y son independientemente CH o N a condición de que al menos uno de X e Y debe ser CH;
 R¹ es un grupo C(O)OR⁴ en el cual R⁴ es alquilo C₁₋₃ o cicloalquilo C₃₋₇; o
 R¹ es un grupo seleccionado entre fenilo, piridilo, pirazinilo y pirimidinilo, estando dichos grupos opcionalmente
 sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₁₋₄ y CN;
 R² es alquilo C₁₋₄;
 10 R³ es alquilo C₁₋₄;
 R⁵ es hidrógeno y R⁶ es alquilo C₁₋₄ sustituido con uno o más hidroxilo o un grupo -NR⁷R⁸ en el que R⁷ y R⁸ son
 independientemente hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄; y
 m es 0, 1 o 2.
- 15 2. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 en el que X e Y son ambos CH o en el que
 X es CH e Y es N.
3. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en el que R¹ es un
 grupo C(O)OR⁴ en el que R⁴ es isopropilo.
4. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en el que R¹ se
 selecciona entre



- 20 5. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en el que R² es
 metilo.
6. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 en el que R³ es
 25 metilo.
7. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que m es 0 o m es
 1.
8. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en el que R⁵ es
 hidrógeno y R⁶ se selecciona entre



- 5 9. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en el que el compuesto de fórmula (I) es el enantiómero (2S,4R).
- 10 10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona entre
2-(4-((2S,4R)-1-Acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)fenil)-N-(2-(dimetilamino)etil)acetamida;
6-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-(dimetilamino)etil)nicotinamida; y
6-((2S,4R)-1-acetil-4-((5-cianopiridin-2-il)amino)-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)-N-(2-hidroxietil)nicotinamida
o una sal del mismo.
- 15 11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en 11 y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
13. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso en terapia.
- 20 14. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento del cáncer o una afección autoinmune y/o inflamatoria crónica.