

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 083**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 401/12</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/4152</b>	(2006.01)
<b>C07D 403/12</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/506</b>	(2006.01)
<b>C07D 405/12</b>	(2006.01)		
<b>C07D 409/12</b>	(2006.01)		
<b>C07D 413/12</b>	(2006.01)		
<b>C07D 417/12</b>	(2006.01)		
<b>A61P 1/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 11/00</b>	(2006.01)		
<b>C07D 239/34</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2007** **E 13153803 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2017** **EP 2589600**

54 Título: **Compuestos basados en 4-fenil-6-(2,2,2-trifluoro-1-feniletoksi)-pirimidina y métodos para su uso**

30 Prioridad:

**12.12.2006 US 874596 P**

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

**18.07.2017**

73 Titular/es:

**LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
8800 Technology Forest Place  
The Woodlands, TX 77381, US**

72 Inventor/es:

**DEVASAGAYARAJ, AROKIASAMY;  
JIN, HAIHONG;  
SHI, ZHI-CAI;  
TUNOORI, ASHOK;  
WANG, YING y  
ZHANG, CHENGMIN**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

**ES 2 625 083 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Compuestos basados en 4-fenil-6-(2,2,2-trifluoro-1-feniletoksi)-pirimidina y métodos para su uso

- 5 La presente solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de EE.UU. n.º 60/874.596, solicitada el 12 de diciembre de 2006.

### 1. Campo de la invención

- 10 La presente invención se refiere a compuestos basados en 4-fenil-6-(2,2,2-trifluoro-1-feniletoksi)-pirimidina, a composiciones que los comprenden y a su uso en el tratamiento, la prevención y la gestión de enfermedades y trastornos.

### 2. Antecedentes

- 15 El neurotransmisor serotonina [5-hidroxitriptamina (5-HT)] está implicado en múltiples facetas del sistema nervioso del control del humor y en la regulación del sueño, la ansiedad, el alcoholismo, el abuso de drogas, la ingesta de alimentos y el comportamiento sexual. En los tejidos periféricos, la serotonina está supuestamente implicada en la regulación del tono vascular, la motilidad intestinal, la hemostasia primaria y las respuestas inmunes mediadas por células. Walther, D.J., et al., Science 299:76 (2003).

- 20 La enzima triptófano hidroxilasa (TPH) cataliza la etapa limitante de velocidad de la biosíntesis de serotonina. Se han informado dos isoformas de TPH: TPH1, que se expresa en la periferia, principalmente en el tracto gastrointestinal (GI); y TPH2, que se expresa en las neuronas serotoninérgicas. *Id.* La isoforma TPH1 está codificada por el gen *tph1*; TPH2 está codificado por el gen *tph2*. *Id.*

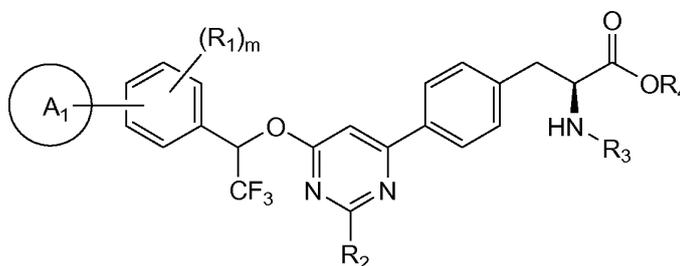
- 30 Se ha informado de ratones genéticamente deficientes para el gen *tph1* ("ratones knockout"). En un caso, se informó que los ratones expresaron cantidades normales de serotonina en regiones cerebrales serotoninérgicas clásicas, pero carecían ampliamente de serotonina en la periferia. *Id.* En otro, los ratones knockout exhibieron actividad cardíaca anormal, que se atribuyó a una carencia de serotonina en la periferia. Cote, F., et al., PNAS 100(23):13525-13530 (2003).

- 35 Debido a que la serotonina está implicada en muchos procesos bioquímicos, los fármacos que afectan a los receptores de serotonina normalmente están asistidos por efectos adversos. De esta manera, existe una necesidad de nuevas formas de tratar enfermedades y trastornos que están afectados por, mediados por o asociados a la serotonina.

- 40 Los compuestos derivados de aminoácidos multicíclicos se proponen para su uso en trastornos mediados por serotonina en el documento WO 2007/089335.

### 3. Sumario de la invención

La presente invención se dirige, en parte, a compuestos de Fórmula I:



I

- 45 y sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de las mismas para su uso como un medicamento en el tratamiento, la prevención o la gestión de hipertensión pulmonar, en la que:  $A_1$  es heterociclo opcionalmente sustituido; cada  $R_1$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R_2$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R_3$  es hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $C(O)OR_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R_4$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ; cada  $R_A$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ; cada  $R_B$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ; cada  $R_C$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $m$  es 1-4.

- 55 Los compuestos particulares inhiben la actividad TPH (por ejemplo, TPH1).

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas y a métodos para tratar, prevenir y gestionar la hipertensión pulmonar.

#### 4. Breve descripción de la figura

5 La Figura 1 muestra el efecto dependiente de dosis de un compuesto de la invención en los niveles de 5-HT en el yeyuno de ratón. El compuesto se dosificó oralmente en una solución de Captisol® al 15 % a 15, 150 y 300 mpk.

#### 5. Descripción detallada

10 La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que eliminando el gen  *tph1*  en ratones reduce significativamente el nivel de serotonina GI, aunque provoca poco, si lo hace, efecto medible en el sistema nervioso central (SNC).

15 La presente invención también se basa en el descubrimiento de compuestos que inhiben TPH (por ejemplo, TPH1). Cuando se administra a mamíferos, los compuestos preferidos de la invención reducen los niveles de serotonina, tienen propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas que permiten su uso práctico para el tratamiento, la prevención y la gestión de enfermedades y trastornos y tienen un amplio margen de seguridad entre el efecto farmacológico y la toxicidad o las reacciones secundarias desfavorables.

#### 5.1. Definiciones

25 Salvo que se indique de otra manera, el término “alqueno” significa un hidrocarburo de cadena recta, ramificada y/o cíclica que tiene de 2 a 20 (por ejemplo, de 2 a 10 o de 2 a 6) átomos de carbono, y que incluye al menos un doble enlace carbono-carbono. Los restos alqueno representativos incluyen vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 1-heptenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, 2-octenilo, 3-octenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 2-decenilo y 3-decenilo.

30 Salvo que se indique de otra manera, el término “alquilo” significa un hidrocarburo de cadena recta, ramificada y/o cíclica (“cicloalquilo”) que tiene de 1 a 20 (por ejemplo, de 1 a 10 o de 1 a 4) átomos de carbono. Los restos alquilo que tienen de 1 a 4 carbonos se denominan “alquilo inferior”. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo. Los restos cicloalquilo pueden ser monocíclicos o multicíclicos, y los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y adamantilo. Los ejemplos adicionales de restos alquilo tienen porciones lineales, ramificadas y/o cíclicas (por ejemplo, 1-etil-4-metil-ciclohexilo). El término “alquilo” incluye hidrocarburos saturados así como restos alqueno y alquino.

40 Salvo que se indique de otra manera, el término “alcoxi” significa un grupo -O-alquilo. Los ejemplos de grupos alcoxi alqueno representativos incluyen -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, y -O(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>.

Salvo que se indique de otra manera, el término “alquilarilo” o “aril-alquilo” significa un resto alquilo unido a un resto arilo.

45 Salvo que se indique de otra manera, el término “alquilheteroarilo” o “alquil-heteroarilo” significa un resto alquilo unido a un resto heteroarilo.

Salvo que se indique de otra manera, el término “alquilheterociclo” o “alquil-heterociclo” significa un resto alquilo unido a un resto heterociclo.

50 Salvo que se indique de otra manera, el término “alquino” significa un hidrocarburo de cadena recta, ramificada o cíclica que tiene de 2 a 20 (por ejemplo, de 2 a 20 o de 2 a 6) átomos de carbono, y que incluye al menos un triple enlace carbono-carbono. Los restos alquino representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butinilo, 4-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo, 5-hexinilo, 1-heptinilo, 2-heptinilo, 6-heptinilo, 1-octinilo, 2-octinilo, 7-octinilo, 1-noninilo, 2-noninilo, 8-noninilo, 1-decinilo, 2-decinilo y 9-decinilo.

60 Salvo que se indique de otra manera, el término “arilo” significa un anillo aromático o un sistema de anillo aromático o parcialmente aromático compuesto por átomos de carbono y de hidrógeno. Un resto arilo puede comprender múltiples anillos unidos o condensados entre sí. Los ejemplos de restos arilo incluyen antraceno, azuleno, bifenilo, fluoreno, indano, indenilo, naftilo, fenantreno, fenilo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno y toliolo.

Salvo que se indique de otra manera, el término “arilalquilo” o “aril-alquilo” significa un resto arilo unido a un resto alquilo.

65 Salvo que se indique de otra manera, las frases “amida biohidrolizable”, “éster biohidrolizable”, “carbamato biohidrolizable”, “carbonato biohidrolizable”, “ureido biohidrolizable” y “fosfato biohidrolizable” significan una amida, un

- éster, un carbamato, un carbonato, un ureido o un fosfato, respectivamente, de un compuesto que bien: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferir a ese compuesto propiedades ventajosas *in vivo*, tales como captación, duración de la acción o aparición de la acción; o bien 2) es biológicamente inactivo pero se convierte *in vivo* en el compuesto biológicamente activo. Los ejemplos de ésteres biohidrolizables incluyen
- 5 ésteres de alquilo inferior, ésteres de alcoxiaciloxi, ésteres de alquil acilamino alquilo y ésteres de colina. Los ejemplos de aminas biohidrolizables incluyen amidas de alquilo inferior, amidas de  $\alpha$ -aminoácidos, amidas de alcoxiacilo y amidas de alquilaminoalquil-carbonilo. Los ejemplos de carbamatos biohidrolizables incluyen alquilaminas inferiores, etilendiaminas sustituidas, aminoácidos, hidroxialquilaminas, aminas heterocíclicas y heteroaromáticas y aminas de poliéter.
- 10 Salvo que se indique de otra manera, las frases “enfermedad o trastorno mediado por serotonina periférica” y “enfermedad y trastorno mediado por serotonina periférica” significan una enfermedad y/o un trastorno que tienen uno o más síntomas, la gravedad de los cuales está afectada por los niveles de serotonina periférica.
- 15 Salvo que se indique de otra manera, los términos “halógeno” y “halo” abarcan flúor, cloro, bromo y yodo.
- Salvo que se indique de otra manera, el término “heteroalquilo” se refiere a un resto alquilo (por ejemplo, lineal, ramificado o cíclico) en el que al menos uno de sus átomos de carbono se ha reemplazado con un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S).
- 20 Salvo que se indique de otra manera, el término “heteroarilo” significa un resto arilo en el que al menos uno de sus átomos de carbono se ha reemplazado con un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Los ejemplos incluyen acridinilo, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzoisotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzoquinazolinilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, furilo, imidazolilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, ftalazinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridilo, pirimidinilo, pirimidilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tetrazolilo, tiazolilo y triazinilo.
- 25 Salvo que se indique de otra manera, el término “heteroarilalquilo” o “heteroaril-alquilo” significa un resto heteroarilo unido a un resto alquilo.
- 30 Salvo que se indique de otra manera, el término “heterociclo” se refiere a un anillo o sistema de anillo aromático, parcialmente aromático o no aromático monocíclico o policíclico comprendido por carbono, hidrógeno y al menos un heteroátomo (por ejemplo, N, O S). Un heterociclo puede comprender múltiples anillos (es decir dos o más) condensados o unidos entre sí. Los heterociclos incluyen heteroarilos. Los ejemplos incluyen benzo[1,3]dioxilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo, cinolinilo, furanilo, hidantoinilo, morfolinilo, oxetanilo, oxiranilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo y valerolactamilo.
- 35 Salvo que se indique de otra manera, el término “heterocicloalquilo” o “heterociclo-alquilo” se refiere a un resto heterociclo unido a un resto alquilo.
- 40 Salvo que se indique de otra manera, el término “heterocicloalquilo” se refiere a un heterociclo no aromático.
- Salvo que se indique de otra manera, el término “heterocicloalquilalquilo” o “heterocicloalquilalquilo” se refiere a un resto heterocicloalquilo unido a un resto alquilo.
- 45 Salvo que se indique de otra manera, los términos “gestionar” “gestión” y “la gestión” abarcan prevenir la recurrencia de la enfermedad o trastorno especificados, o de uno o más de sus síntomas, en un paciente que ya haya padecido la enfermedad o el trastorno, y/o prolongar el tiempo que un paciente que haya padecido la enfermedad o el trastorno se mantiene en remisión. Los términos abarcan modular el umbral, el desarrollo y/o la duración de la enfermedad o el trastorno, o cambiar el modo en que un paciente responde a la enfermedad o el trastorno.
- 50 Salvo que se indique de otra manera, la frase “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales preparadas a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen ácidos y bases inorgánicos y ácidos y bases orgánicos. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables incluyen sales metálicas hechas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc o sales orgánicas hechas de lisina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos tales como ácido acético, algínico, antranílico, bencensulfónico, benzoico alcanforsulfónico, cítrico etensulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glucólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, meico, málico, mandélico, metansulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico y ácido p-toluensulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metansulfónico. Los ejemplos de sales específicas incluyen de esta manera sales de clorhidrato y mesilato. Otros se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990) y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1995).
- 65

Salvo que se indique de otra manera, la frase "inhibidor potente de TPH1" es un compuesto que tiene una  $CI_{50\_TPH1}$  de menos de aproximadamente 10  $\mu M$ .

5 Salvo que se indique de otra manera, los términos "prevenir", "prevención" y "la prevención" contemplan una acción que ocurre antes de que un paciente comience a padecer la enfermedad o el trastorno especificados, que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno o de uno o más de sus síntomas. Los términos abarcan profilaxis.

10 Salvo que se indique de otra manera, el término "profármaco" abarca ésteres, carbonatos, tiocarbonatos, derivados de N-acilo, derivados de N-aciloxialquilo, derivados cuaternarios de aminas terciarias, bases de N-Mannich, bases de Schiff, conjugados de aminoácidos, ésteres de fosfato, sales metálicas y ésteres de sulfonato farmacéuticamente aceptables de compuestos desvelados en el presente documento. Los ejemplos de profármacos incluyen compuestos que comprenden un resto biohidrolizable (por ejemplo, una amida biohidrolizable, un carbamato biohidrolizable, un carbonato biohidrolizable, un éster biohidrolizable, un fosfato biohidrolizable o un análogo de ureida biohidrolizable). Los profármacos de compuestos desvelados en el presente documento se visualizan y se preparan fácilmente por aquellos expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Design of Prodrugs, Bundgaard, A. Ed., Elsevier, 1985; Bundgaard, H., "Design and Application of Prodrugs," A Textbook of Drug Design and Development, Krosgaard-Larsen y H. Bundgaard, Ed., 1991, Capítulo 5, p. 113-191; y Bundgaard, H., Advanced Drug Delivery Review, 1992, 8, 1-38.

20 Salvo que se indique de otra manera, una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o afección, o uno o más síntomas asociados a la enfermedad o afección, o prevenir su recurrencia. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto es una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad. La frase "cantidad profilácticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejore en global la profilaxis o potencie la eficiencia profiláctica de otro agente profiláctico.

30 Salvo que se indique de otra manera, la frase "grupo de protección" o "grupo protector", cuando se usan para referirse a parte de una molécula sometida a una reacción química, significa un resto químico que no es reactivo en las condiciones de esa reacción química, y que pueden retirarse para proporcionar un resto que sea reactivo en esas condiciones. Los grupos protectores se conocen bien en la técnica. Véase Greene, T.W. y Wuts, P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis (3a ed., John Wiley & Sons: 1999); Larock, R.C., Comprehensive Organic Transformations (2a ed., John Wiley & Sons: 1999). Algunos ejemplos incluyen bencilo, difenilmetilo, tritilo, Cbz, Boc, Fmoc, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo y ftalimido.

35 Salvo que se indique de otra manera, el término "pseudohalógeno" se refiere a un anión poliatómico que se asemeja a un ion haluro en su química ácido-base, de sustitución y redox, generalmente como baja basicidad, y forma un radical libre en condiciones de polimerización de radicales por transferencia de átomo. Los ejemplos de pseudohalógenos incluyen iones azida, cianuro, cianato, tiocianato, tiosulfato, sulfonatos y haluros de sulfonilo.

40 Salvo que se indique de otra manera, la frase "inhibidor selectivo de TPH1" es un compuesto que tiene una  $CI_{50\_TPH2}$  que es al menos 10 veces mayor que su  $CI_{50\_TPH1}$ .

45 Salvo que se indique de otra manera, la frase "composición estereoméricamente enriquecida de" un compuesto se refiere a una mezcla del compuesto dicho y su estereoisómero o estereoisómeros que contienen uno o más del compuesto dicho que de su estereoisómero o estereoisómeros. Por ejemplo, una composición estereoméricamente enriquecida de (S)-butan-2-ol abarca mezclas de (S)-butan-2-ol y (R)-butan-2-ol en relaciones de, por ejemplo, aproximadamente 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 95/5 y 98/2.

50 Salvo que se indique de otra manera, la frase "mezcla estereoisomérica" abarca mezclas racémicas así como mezclas estereoméricamente enriquecidas (por ejemplo, R/S = 30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 55/45, 60/40, 65/35 y 70/30).

55 Salvo que se indique de otra manera, la frase "estereoméricamente pura" significa una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene un estereocentro estará sustancialmente libre del estereoisómero opuesto del compuesto. Una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene dos estereocentros estará sustancialmente libre de otros diastereómeros del compuesto. Una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene múltiples estereocentros, pero se dibuja o se nombra de tal manera que las estereoquímicas de menos de todos sus estereocentros se definan, está sustancialmente libre de los isómeros del compuesto que tienen diferentes estereoquímicas en los estereocentros para los que se define la estereoquímica. Por ejemplo, "((1-R)-1,2-dicloropropil)benceno estereoméricamente puro" se refiere a ((1-R)-1,2-dicloropropil)benceno que está sustancialmente libre de ((1-S)-1,2-dicloropropil)benceno.

65 Un compuesto estereoméricamente puro típico comprende más de aproximadamente el 80 % en peso de un estereoisómero y el compuesto y menos de aproximadamente el 20 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de

aproximadamente el 10 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 5 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 3 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, o más de aproximadamente el 99 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 1 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto.

Salvo que se indique de otra manera, el término “sustituido”, cuando se usa para describir una estructura o un resto químicos, se refiere a un derivado de esa estructura o resto en el que uno o más de sus átomos de hidrógeno está sustituido con un átomo, un resto químico o un grupo funcional tal como, pero no limitado a, alcohol, aldehído, alcoxi, alcanoiloxi, alcoxicarbonilo, alquenilo, alquilo (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, t-butilo), alquinilo, alquilcarboniloxi (-OC(O)alquilo), amida (-C(O)NH-alquil- o -alquil-NHC(O)alquilo), amidinilo (-C(NH)NH-alquilo o -C(NR)NH<sub>2</sub>), amina (primaria, secundaria y terciaria tales como alquilamino, arilamino, arilalquilamino), aroilo, arilo, ariloxi, azo, carbamilo (-NHC(O)O-alquil- o -OC(O)NH-alquilo), carbamilo (por ejemplo, CONH<sub>2</sub>, así como CONH-alquilo, CONH-arilo, y CONH-arilalquilo), carbonilo, carboxilo, ácido carboxílico, anhídrido de ácido carboxílico, cloruro de ácido carboxílico, ciano, éster, epóxido, éter (por ejemplo, metoxi, etoxi), guanidino, halo, haloalquilo (por ejemplo, -CCl<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -C(CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), heteroalquilo, hemiacetal, imina (primaria y secundaria), isocianato, isotiocianato, cetona, nitrilo, nitro, oxígeno (es decir, para proporcionar un grupo oxo), fosfodiéster, sulfuro, sulfonamido (por ejemplo, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), sulfona, sulfonilo (incluyendo alquilsulfonilo, arilsulfonilo y arilalquilsulfonilo), sulfóxido, tiol (por ejemplo, sulfhidrilo, tioéter) y urea (-NHCONHalquil-).

Salvo que se indique de otra manera, una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de una enfermedad o afección, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados a la enfermedad o afección. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto es una cantidad de un agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de la enfermedad o afección. La frase “cantidad terapéuticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejore la terapia global, reduzca o evite los síntomas o las causas de una enfermedad o afección, o potencie la eficiencia terapéutica de otro agente terapéutico.

Salvo que se indique de otra manera, la frase “CI<sub>50</sub>\_TPH1” es la CI<sub>50</sub> de un compuesto para TPH1 como se determina usando el ensayo de inhibición *in vitro* que se describe en los Ejemplos, a continuación.

Salvo que se indique de otra manera, la frase “CI<sub>50</sub>\_TPH2” es la CI<sub>50</sub> de un compuesto para TPH2 como se determina usando el ensayo de inhibición *in vitro* que se describe en los Ejemplos, a continuación.

Salvo que se indique de otra manera, los términos “tratar”, “tratamiento” y “el tratamiento” contemplan una acción que ocurre mientras un paciente está padeciendo la enfermedad o el trastorno especificados, que reduce la gravedad de la enfermedad o el trastorno, o uno o más de sus síntomas, o retrasa o ralentiza el avance de la enfermedad o trastorno.

Salvo que se indique de otra manera, la frase “que incluye” tiene el mismo significado que “incluyen” y el término “incluye” tiene el mismo significado que “incluye, pero no se limita a”. Similarmente, la frase “tal como” tiene el mismo significado que “tal como, pero no limitado a”.

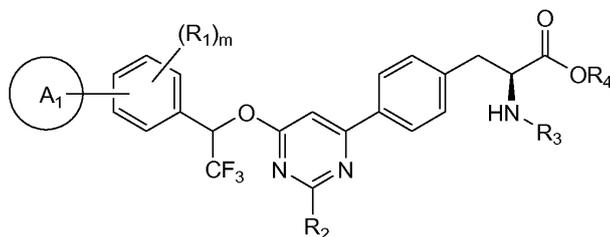
Salvo que se indique de otra manera, uno o más adjetivos que siguen inmediatamente a una serie de nombres ha de construirse como que se aplica a cada uno de los nombres. Por ejemplo, la frase “alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido” tiene el mismo significado que “alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido”.

Nótese que un resto químico que forma parte de un compuesto más grande puede describirse en el presente documento usando un nombre comúnmente acordado cuando existe como una molécula única o un nombre comúnmente acordado de su radical. Por ejemplo, los términos “piridina” y “piridilo” se acuerdan como el mismo significado cuando se usan para describir un resto unido a otros restos químicos. De esta manera las dos frases “XOH, en el que X es piridilo” y “XOH, en el que X es piridina” se acuerdan como el mismo significado, y abarcan los compuestos piridin-2-ol, piridin-3-ol y piridin-4-ol.

Nótese también que si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no se indica con, por ejemplo, líneas en negrita o punteadas, la estructura o la porción de la estructura ha de interpretarse que abarca todos los estereoisómeros de la misma. Similarmente, los nombres de los compuestos que tienen uno o más centros quirales que no especifican la estereoquímica de aquellos centros abarca estereoisómeros puros y mezclas de los mismos. Además, cualquier átomo mostrado en un dibujo con valencias sin satisfacer se asume que está unido a suficientes átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Además, los enlaces químicos representados con una línea sólida paralela a una línea punteada abarca tanto enlaces sencillos como dobles (por ejemplo, aromáticos) si la valencia lo permite.

**5.2. Compuestos**

La presente invención abarca, entre otros, compuestos de fórmula I:



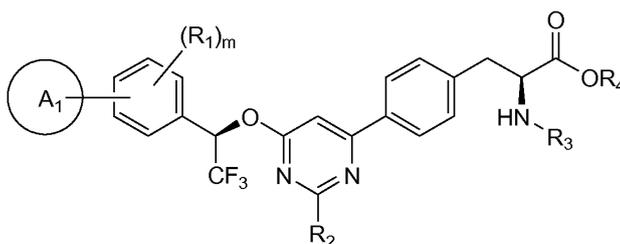
5

I

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso como un medicamento en el tratamiento, la prevención o la gestión de hipertensión pulmonar, en la que: A<sub>1</sub> es heterociclo opcionalmente sustituido; cada R<sub>1</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub>; o alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sub>2</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sub>3</sub> es hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, C(O)OR<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sub>4</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; cada R<sub>A</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; cada R<sub>B</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; cada R<sub>C</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; y m es 1-4.

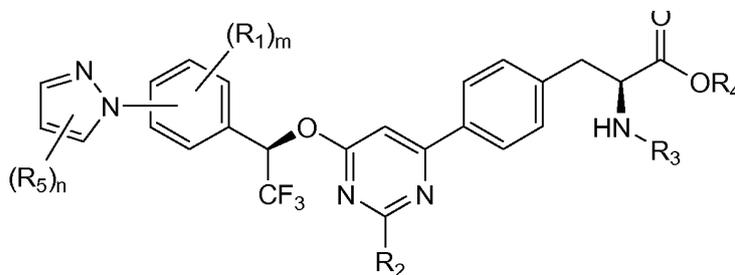
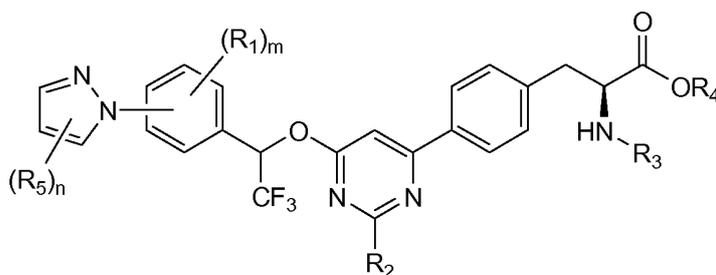
10

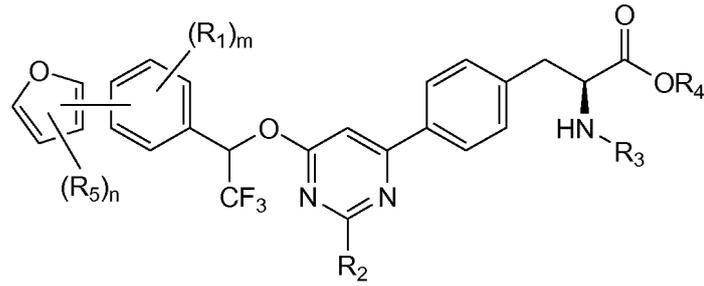
15 En una realización, el compuesto es de fórmula:



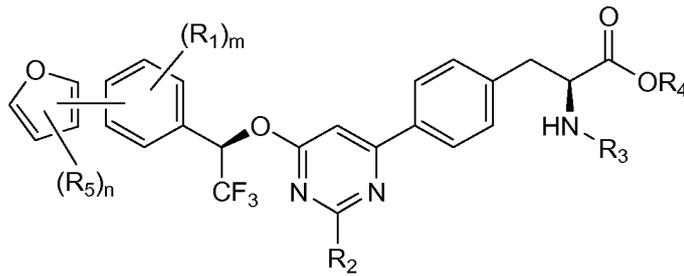
En otra, es de fórmula:

20





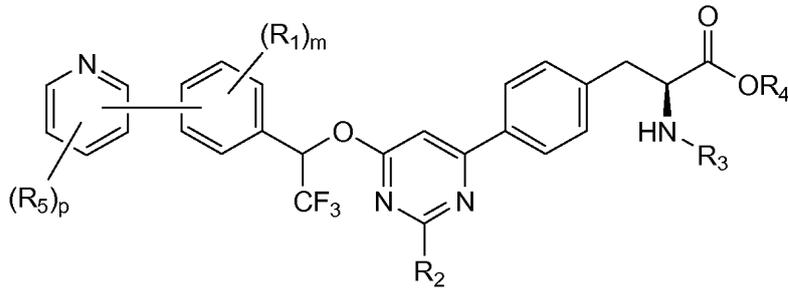
o



5

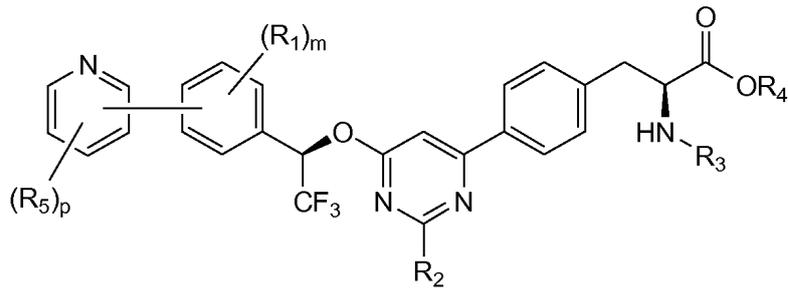
en las que: cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $n$  es 1-3.

10 En otra, es de fórmula:



o

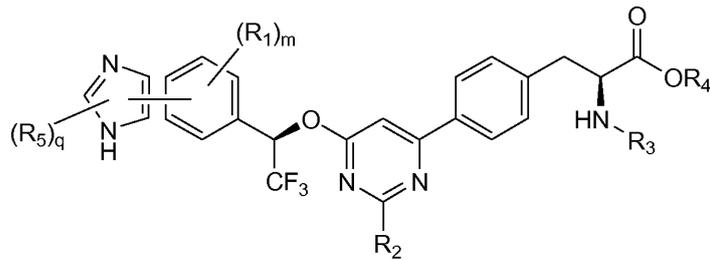
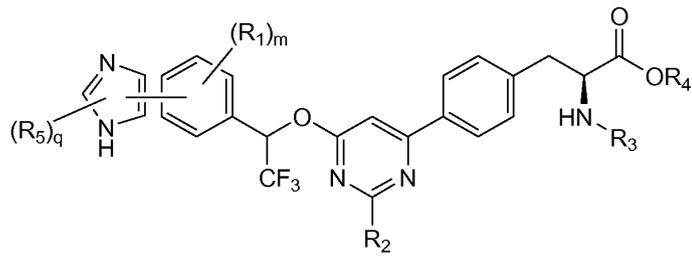
15



en las que: cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $p$  es 1-4.

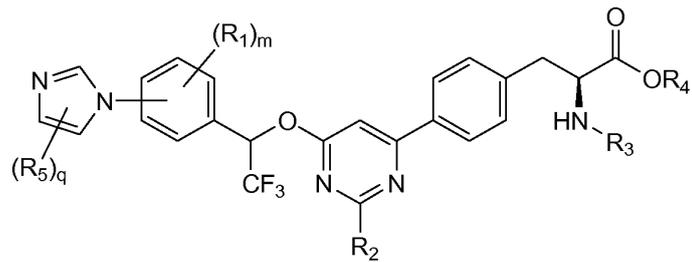
20

En otra, es de fórmula:

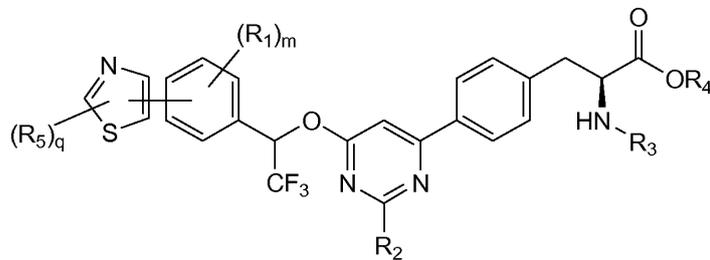
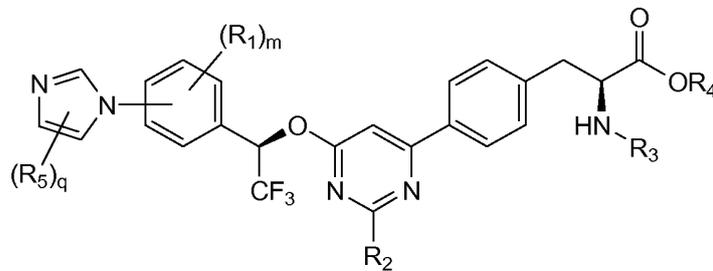


5 en las que: cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $q$  es 1-2.

En otra, es de fórmula:

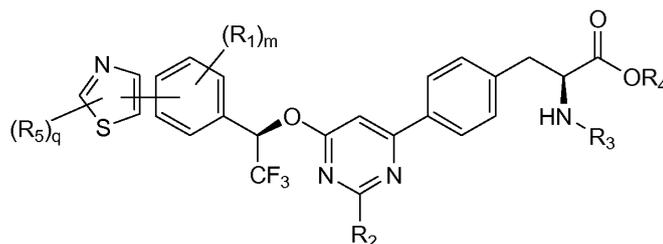


10



15

o



en las que: cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $q$  es 1-2.

5 Con respecto a las diversas fórmulas descritas en el presente documento, en particular compuestos de la invención,  $A_1$  es aromático. En otras,  $A_1$  no es aromático. En algunas,  $A_1$  está opcionalmente sustituido con uno o más de halógeno o alquilo inferior.

10 En algunas,  $R_1$  es hidrógeno o halógeno.

En algunas,  $m$  es 1.

En algunas,  $R_2$  es hidrógeno o amino.

15 En algunas,  $R_3$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ . En otras,  $R_3$  es  $C(O)R_A$  y  $R_A$  alquilo  $C_{1-4}$ .

En algunas,  $R_4$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ .

20 En algunas,  $R_5$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo).

En algunas,  $n$  es 1.

En algunas,  $p$  es 1.

25 En algunas,  $q$  es 1.

La presente invención se refiere a compuestos estereoméricamente puros y a composiciones estereoméricamente enriquecidas de ellos. Los estereoisómeros pueden sintetizarse asimétricamente o resolverse usando técnicas convencionales tales como columnas quirales, agentes de resolución quiral o resolución enzimática. Véase, por ejemplo, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, Nueva York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions*, p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

35 Los compuestos particulares de la invención son potentes inhibidores de TPH1. Los compuestos específicos tienen una  $CI_{50\_TPH1}$  de menos de aproximadamente 10, 5, 2,5, 1, 0,75, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1 o 0,05  $\mu M$ .

40 Los compuestos particulares son inhibidores selectivos de TPH1. Los compuestos específicos tienen una  $CI_{50\_TPH1}$  que es aproximadamente 10, 25, 50, 100, 250, 500 o 1000 veces menor que su  $CI_{50\_TPH2}$ .

Los compuestos particulares no inhiben significativamente la tirosina hidroxilasa (TH) humana. Por ejemplo, los compuestos específicos tienen una  $CI_{50}$  para TH mayor de aproximadamente 100, 250, 500 o 1000  $\mu M$ .

45 Los compuestos particulares no inhiben significativamente la fenilalanina hidroxilasa (PAH) humana. Por ejemplo, los compuestos específicos tienen una  $CI_{50}$  para PAH mayor de aproximadamente 100, 250, 500 o 1000  $\mu M$ .

50 Los compuestos particulares no se unen significativamente (por ejemplo, inhiben con una  $CI_{50}$  mayor de aproximadamente 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750 o 1000  $\mu M$ ) a uno o más de los siguientes: enzima convertidora de angiotensina, receptor de eritropoyetina (EPO), factor IX, factor XI, integrina (por ejemplo  $\alpha_4$ ), receptor de fibrinógeno isoxazolina o isoxazol, metaloproteasa, endopeptidasa neutra (NEP), fosfatasa (por ejemplo, tirosina fosfatasa), fosfodiesterasa (por ejemplo, PDE-4), polimerasa, PPAR $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , molécula 1 de adhesión a las células vasculares (VCAM-1) o el receptor de vitronectina. La capacidad de un compuesto para unirse a (por ejemplo, inhibir) cualquiera de estas dianas puede determinarse fácilmente usando métodos conocidos en la técnica, como se describe en las referencias citadas anteriormente. Los compuestos específicos de la invención no inhiben la adhesión celular.

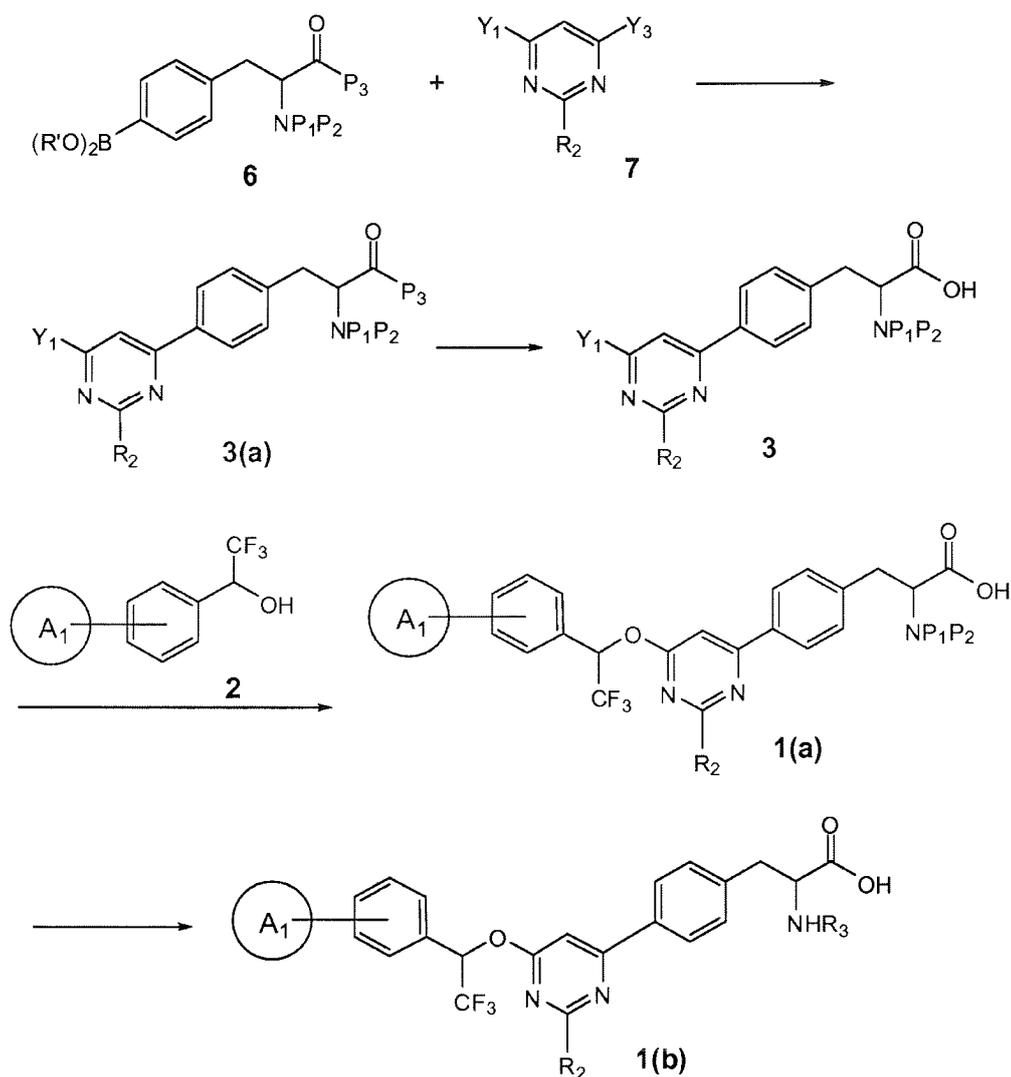
55 Cuando se administran a mamíferos (por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos o humanos), ciertos compuestos de

- la invención no atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica (por ejemplo, menos de aproximadamente un 5, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,5 o 0,01 por ciento del compuesto en la sangre pasa hacia el cerebro). La capacidad o la incapacidad de un compuesto para cruzar la barrera hematoencefálica pueden determinarse por métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Riant, P. et al., *Journal of Neurochemistry* 51:421-425 (1988); Kastin, A.J., Akerstrom, V., *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics* 294:633-636 (2000); W. A. Banks, W.A., et al., *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics* 302:1062-1069 (2002).

### 5.3. Síntesis de compuestos

- 10 Los compuestos de la invención pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica y por métodos descritos en el presente documento.

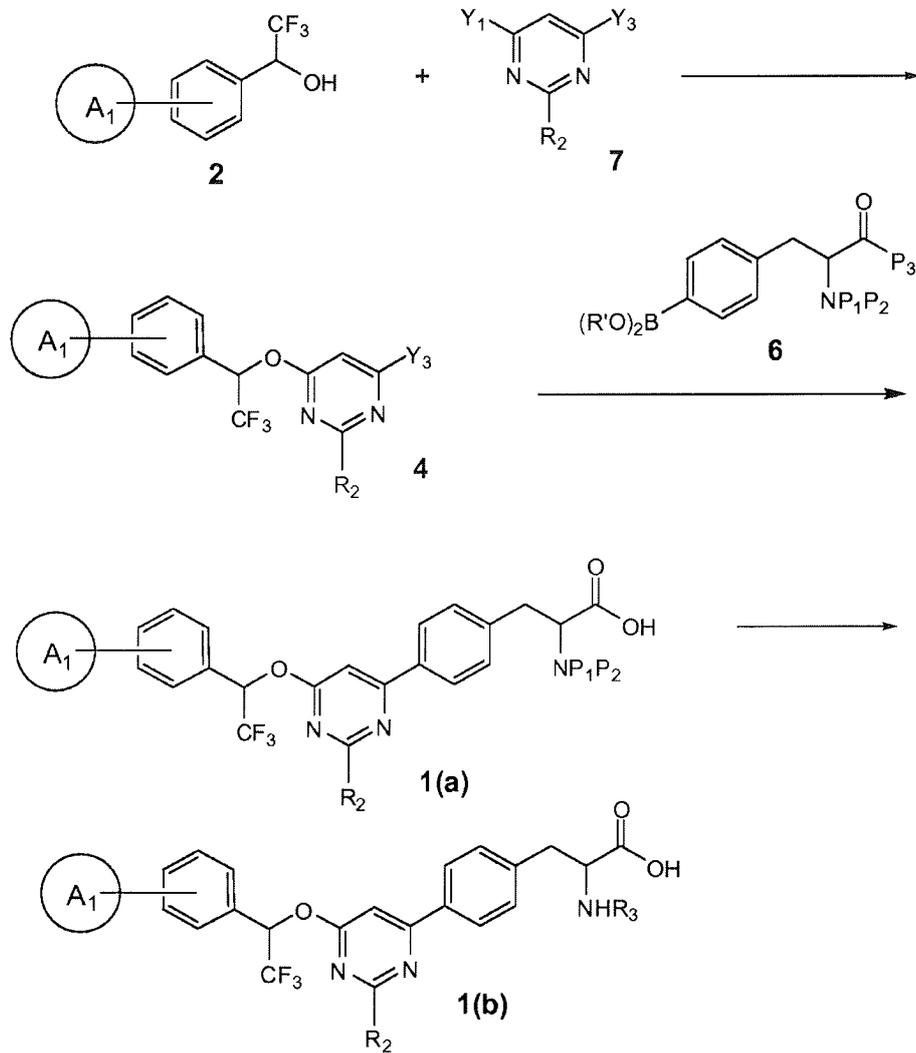
Por ejemplo, los compuestos de fórmula I pueden prepararse como se muestra en el Esquema 1:



Esquema 1

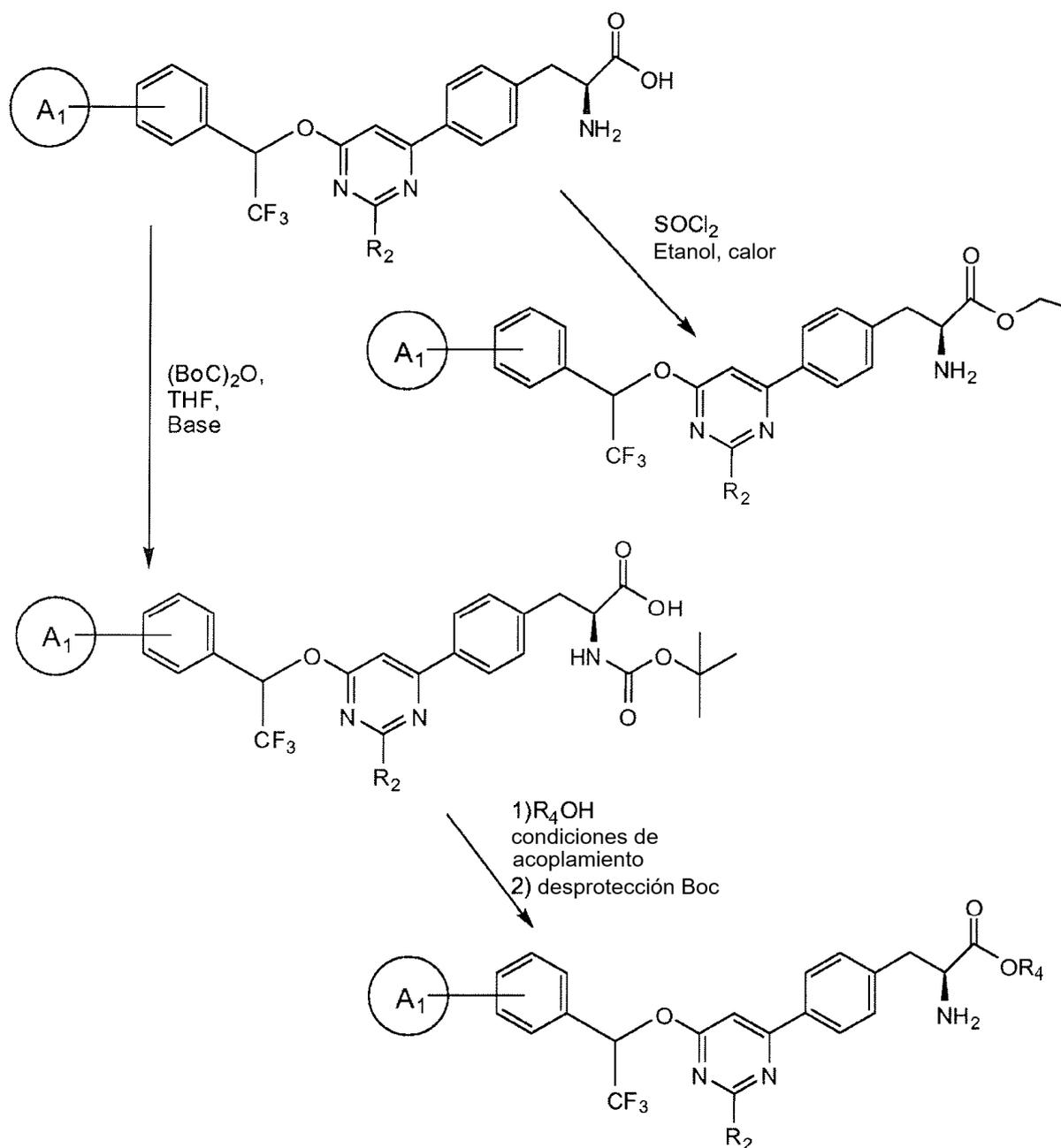
- 15 en el que  $P_1$  es  $R_1$  o un grupo protector;  $P_2$  es un grupo protector;  $P_3$  es  $OR_2$  o un grupo protector;  $Y_1$  e  $Y_3$  son halógeno (por ejemplo, Br, Cl) o un pseudohaluro apropiado (por ejemplo, triflato); y cada uno de los grupos  $A_1$ ,  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se definen en algún lugar en el presente documento.

- 20 Los compuestos de la invención también pueden prepararse por la aproximación representada a continuación en el Esquema 2:



Esquema 2

- Las reacciones individuales mostradas en los esquemas anteriores pueden realizarse usando condiciones conocidas en la técnica. Por ejemplo, los catalizadores de paladio y las condiciones adecuadas para el acoplamiento de Suzuki de los restos que contienen boro y halógeno se conocen bien y se proporcionan ejemplos a continuación. Además, los tipos y los usos apropiados de los grupos protectores se conocen bien, como lo son métodos de su retirada y reemplazamiento con restos tales como, pero no limitados a, hidrógeno (por ejemplo, hidrólisis en condiciones ácidas o básicas).
- 10 Los derivados éster de compuestos de la invención pueden prepararse fácilmente usando métodos tales como aquellos mostrados a continuación en el Esquema 3:



Esquema 3

Usando métodos conocidos en la técnica, las aproximaciones sintéticas mostradas anteriormente se modifican fácilmente para obtener un amplio intervalo de compuestos. Por ejemplo, pueden usarse cromatografía quiral y otras técnicas conocidas en la técnica para separar estereoisómeros del producto final. Véase, por ejemplo, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, Nueva York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions*, p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972). Además, como se muestra en algunos de los esquemas anteriores, las síntesis pueden utilizar materiales de partida quirales para producir productos estereoméricamente enriquecidos o puros.

#### 5.4. Métodos de uso

La presente invención se refiere a un método para inhibir TPH, que comprende poner en contacto la TPH con un compuesto de la invención (es decir, un compuesto descrito en el presente documento). En un método particular, la TPH es TPH1. En otro, la TPH es TPH2. En un método particular, la inhibición es *in vitro*. En otro, la inhibición es *in vivo*.

Una realización se refiere a un método para inhibir TPH1 en un mamífero (por ejemplo, un humano), que comprende administrar al mamífero un compuesto de la invención. En un método particular, la TPH2 no se inhibe significativamente. En un método, el compuesto no cruza fácilmente la barrera hematoencefálica. En otro, el compuesto es un inhibidor selectivo de la TPH1.

5 La invención se refiere a métodos para el tratamiento, la prevención y la gestión de hipertensión pulmonar (por ejemplo, hipertensión asociada a hipertensión portal).

10 En métodos particulares con respecto a la invención, el tratamiento, la gestión y/o la prevención de una enfermedad o trastorno se logra mientras se evitan efectos adversos asociados a la alteración de los niveles de serotonina del sistema nervioso central (SNC). Los ejemplos de tales efectos adversos incluyen agitación, trastornos de ansiedad, depresión y trastornos del sueño (por ejemplo insomnio y perturbación del sueño). En métodos particulares con respecto a la invención, el tratamiento, la gestión y/o la prevención de una enfermedad o trastorno se logra mientras se evitan efectos adversos asociados a la alteración de los niveles de serotonina del sistema nervioso central (SNC).  
15 Los ejemplos de tales efectos adversos incluyen agitación, trastornos de ansiedad, depresión y trastornos del sueño (por ejemplo insomnio y perturbación del sueño)

### 5.5. Composiciones farmacéuticas

20 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la invención. Ciertas composiciones farmacéuticas son formas de dosificación unitaria adecuadas para administración oral, mucosa (por ejemplo, nasal, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, inyección de bolo, intramuscular o intraarterial) o administración transdérmica a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a: comprimidos; comprimidos encapsulados;  
25 cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elásticas blandas; obleas; trociscos; pastillas para chupar; dispersiones; supositorios; ungüentos; cataplasmas (apósitos); pastas; polvos; aderezos; cremas; escayolas; soluciones; aerosoles (por ejemplo, pulverizadores nasales o inhaladores); geles; formas de dosificación líquida adecuadas para la administración mucosa a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones aceite en agua o emulsiones líquidas agua en aceite), soluciones y elixires; formas de dosificación líquida adecuadas para la administración parenteral a un paciente; y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden reconstituirse para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente.

35 La formulación debe adecuarse al modo de administración. Por ejemplo, la administración oral de un compuesto susceptible a la degradación en el estómago puede lograrse usando un recubrimiento entérico. De forma similar, una formulación puede contener ingredientes que faciliten el transporte del principio o principios activos al sitio de acción. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse en formulaciones liposómicas para protegerlos de las enzimas degradantes, facilitar el transporte en el sistema circulatorio y efectuar su transporte a través de las membranas celulares.

40 De forma similar, los compuestos escasamente solubles pueden incorporarse en formas de dosificación líquidas (y formas de dosificación adecuadas para reconstitución) con la ayuda de agentes solubilizantes, emulsionantes y tensioactivos tales como, pero no limitados a, ciclodextrinas (por ejemplo,  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina, Captisol® y Encapsin™ (véase, por ejemplo, Davis y Brewster, Nat. Rev. Drug Disc. 3:1023-1034 (2004)), Labrasol®, Labrafil®, Labrafac®, cremafor y disolventes no acuosos, tales como, pero no limitados a, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetil formamida, dimetil sulfoxido (DMSO), aceites biocompatibles (por ejemplo, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrrico, polietilenglicoles, ésteres de ácido graso de sorbitán y mezclas de los mismos (por ejemplo., DMSO:aceite de maíz).

50 Los compuestos poco solubles en agua también pueden incorporarse en suspensiones usando otras técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, las nanopartículas de un compuesto pueden suspenderse en un líquido para proporcionar una nanosuspensión (véase, por ejemplo, Rabinow, Nature Rev. Drug Disc. 3:785-796 (2004)). Las formas de nanopartículas de los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse por los métodos descritos en las Publicaciones de Patente de EE.UU. n.º 2004-0164194, 2004-0195413, 2004-0251332, 2005-0042177 A1, 2005-0031691 A1 y las Patentes de EE.UU. n.1 5.145.684, 5.510.118, 5.518.187, 5.534.270, 5.543.133, 5.662.883, 5.665.331, 5.718.388, 5.718.919, 5.834.025, 5.862.999, 6.431.478, 6.742.734, 6.745.962. La forma de nanopartícula puede comprender partículas que tienen un tamaño de partícula promedio de menos de aproximadamente 2000 nm, menos de aproximadamente 1000 nm o menos de aproximadamente 500 nm.

60 La composición, la forma y el tipo de una forma de dosificación variarán típicamente dependiendo del uso. Por ejemplo, una forma de dosificación usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener cantidades mayores de uno o más de los principios activos que comprende que una forma de dosificación usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. Similarmente, una forma de dosificación parenteral puede contener  
65 pequeñas cantidades de uno o más de los ingredientes activos que comprende que una forma de dosificación oral usada para tratar la misma enfermedad. Cómo tener en cuenta tales diferencias será evidente para aquellos

expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

#### 5.5.1. Formas de dosificación oral

5 Las composiciones farmacéuticas con respecto a la invención adecuadas para la administración oral pueden presentarse como formas de dosificación discretas, tales como, pero no se limitan a, comprimidos (por ejemplo, comprimidos masticables), comprimidos encapsulados, cápsulas y líquidos (por ejemplo, jarabes con sabor). Tales formas de dosificación contienen cantidades predeterminadas de principios activos y pueden prepararse por métodos de farmacia bien conocidos para aquellos expertos en la materia. Véase generalmente, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

15 Las formas de dosificación oral típicas se preparan combinando el principio o principios activos en una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con las técnicas de formación de compuestos farmacéuticos convencionales. Los excipientes pueden tomar una amplia diversidad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración.

20 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas. Si desea, los comprimidos pueden recubrirse por técnicas convencionales acuosas o no acuosas. Tales formas de dosificación pueden prepararse por métodos convencionales de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación se preparan mezclando uniforme e íntimamente los principios activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después dando forma al producto en la presentación deseada si es necesario. Pueden incorporarse disgregantes en formas de dosificación sólidas para facilitar la rápida disolución. También pueden incorporarse lubricantes para facilitar la fabricación de formas de dosificación (por ejemplo, comprimidos).

#### 5.5.2. Formas de dosificación oral

30 Las formas de dosificación farmacéutica pueden administrarse a pacientes por diversas vías incluyendo subcutánea, intravenosa (incluyendo inyección de bolo), intramuscular e intraarterial. Debido a que su administración típicamente pasa por alto las defensas naturales de los pacientes contra los contaminantes, las formas de dosificación parenteral son específicamente estériles o capaces de esterilizarse antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen soluciones listas para inyección, productos secos listos para disolverse o suspenderse en un vehículo farmacéuticamente aceptable para la inyección, suspensiones listas para la inyección y emulsiones.

40 Los vehículos adecuados que pueden usarse para proporcionar formas de dosificación parenteral de la invención se conocen bien por aquellos expertos en la materia. Los ejemplos incluyen: Agua para Inyección USP; vehículos acuosos tales como Inyección de Cloruro Sódico, Inyección de Ringer, Inyección de Dextrosa, Inyección de Dextrosa y Cloruro Sódico e Inyección de Lactato de Ringer; vehículos miscibles en agua tales como alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como aceite de maíz, aceite de semillas de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

## 6. EJEMPLOS

### 45 6.1. Producción de ratones con gen *tph1* interrumpido

50 El exón 3 del gen TPH1 murino se retiró por marcaje génico esencialmente como se describe por Wattler et al., Biotechniques 26(6):1150-6 (1999). Los animales *knockout* resultantes mostraron actividad TPH normal en el cerebro pero una expresión de TPH drásticamente reducida en el intestino.

### 6.2. Efectos fisiológicos de la interrupción del gen *tph1*

55 Se estudiaron ratones homocigotos (-/-) para la interrupción de *tph1* junto con ratones heterocigotos (+/-) para la interrupción del gen, junto con compañeros de camada de tipo silvestre (+/+). Durante este análisis, los ratones se sometieron a un tratamiento médico usando un ajuste integrado de procedimientos diagnósticos médicos diseñados para evaluar la función de los sistemas de órganos principales en un sujeto mamífero. Estudiando los ratones *knockout* homocigotos (-/-) en los números descritos y junto con compañeros de camada heterocigotos (+/-) y tipo silvestre (+/+), se obtuvieron datos más fiables y repetibles.

60 La interrupción del gen *tph1* afectó principalmente a la isoforma del tracto gastrointestinal de TPH (TPH1) y tuvo poco o no tuvo efecto en la isoforma cerebral de TPH (TPH2). La interrupción del gen no provocó efectos adversos medibles en el sistema nervioso central. Esto se confirmó por inmunoquímica de serotonina, que mostró que la serotonina se redujo fuertemente o estaba ausente en el estómago, el duodeno, el yeyuno, el íleon, el ciego y el colon, mientras que los niveles de serotonina no se vieron afectados en las neuronas del rafe.

65

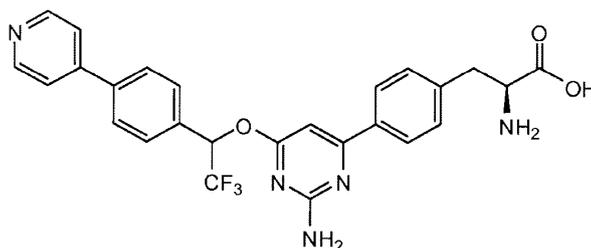
Algunos ratones homocigotos (-/-) para la disrupción del gen *tph1* exhibieron una disminución en la trombosis sin un aumento significativo en el sangrado u otras indicaciones adversas.

### 6.3. Caracterización por HPLC

5 En algunos de los siguientes ejemplos sintéticos, se proporcionan los tiempos de retención de la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Las diversas condiciones usadas para obtener esos tiempos de retención se describen a continuación:

- 10 Método A: YMC-PACK ODS-A 3,0x50mm; Disolvente A = H<sub>2</sub>O, 0,1 % de TFA; Disolvente B = MeOH, 0,1 % de TFA; % de B del 10 al 90 % durante 4 min; caudal = 2 ml/min; longitud de onda de observación = 220 y 254 nm.  
Método B: YMC-PACK ODS-A 3,0x50mm; Disolvente A = 90 % de agua, 10 % de MeOH con 0,1 % de TFA; Disolvente B = 90 % de MeOH, 10 % de agua con 0,1 % de TFA; % de B del 0 al 100 % durante 4 min; caudal = 2 ml/min; longitud de onda de observación = 220 y 254 nm.
- 15 Método C: ShimPack VP ODS 4,6x50mm; Disolvente A = 90 % de H<sub>2</sub>O, 10 % de MeOH, 1 % de TFA; Disolvente B = 10 % de H<sub>2</sub>O, 90 % de MeOH, 1 % de TFA; % de B del 0 al 100 % durante 2 min; caudal = 3,5 ml/min; longitud de onda de observación = 220 y 254 nm.  
Método D: Shim VP ODS 4,6x50 mm; Disolvente A = H<sub>2</sub>O con 0,1 % de TFA; Disolvente B = MeOH con 0,1 % de TFA; % de B del 0 al 100 % durante 4 min; caudal = 3 ml/min; longitud de onda de observación = 254 nm.
- 20 Método E: YMC Pack ODS-A 4,6 x 33 mm; Disolvente A = H<sub>2</sub>O, 0,1 % de TFA; Disolvente B = MeOH con 0,1 % de TFA; % de B del 10 al 90 % durante 3 min; caudal 2 ml/min; longitud de onda de observación 220 y 254 nm.  
Método F: YMC-Pack ODS-A 3,0x50 mm; Disolvente A = 90 % de H<sub>2</sub>O, 10 % de MeOH, 1 % de TFA; Disolvente B = 10 % de H<sub>2</sub>O, 90 % de MeOH, 1 % de TFA; % de B del 10 al 90 % durante 4 min; caudal = 2 ml/min longitud de onda de observación = 220 y 254 nm.

### 6.4. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il)fenil)-propiónico

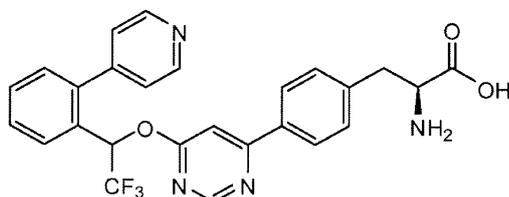


30 Se añadió fluoruro de tetrabutamonio (0,027 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) se añadió a una solución de 4-piridin-4-il-benzaldehído (500 mg, 2,73 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (485 µl, 3,28 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El disolvente se evaporó a sequedad, se añadieron 9 ml de solución acuosa de carbonato sódico 1 M, la fase acuosa se extrajo con cloroformo (3x10 ml) y la capa de cloroformo combinada se lavó con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. El disolvente orgánico se retiró al vacío para dar 360 mg de 2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)etanol, rendimiento: 51 %.

40 La mezcla de 2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)etanol (100 mg, 0,40 mmol), 2-amino-4,6-dicloropirimidina (60 mg, 0,38 mmol) y carbonato de cesio (468 mg, 1,44 mmol) se disolvió en 2 ml de 1,4-dioxano en un tubo sellado de 50 ml. La mezcla se calentó a 110 °C durante toda la noche, después se enfrió a temperatura ambiente; se añadieron 10 ml de acetato de etilo y después se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró para dar 120 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-2-ilamina, rendimiento: 80 %.

45 En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-2-ilamina (30 mg, 0,080 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (21 mg, 0,098 mmol) y 1 ml de acetonitrilo, y 0,7 ml de agua. Después, se añadió a la mezcla carbonato sódico acuoso 1 N, seguido de un 5 por ciento en moles de dicloro-bis-(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por LC prep. para dar 6,7 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il)fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,82 (s, 2H), 8,26 (s, 2H), 8,02 (d, J=8Hz, 2H), 7,97(d, J=8,4Hz, 2H), 7,86 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,45 (d, J=8Hz 2H), 6,89(q, J=6,8Hz, 1H), 6,81(d, J=2Hz,1H), 4,29(t, J=1,6Hz, 1H), 3,39(m, 1H), 3,19(m, 1H).

55

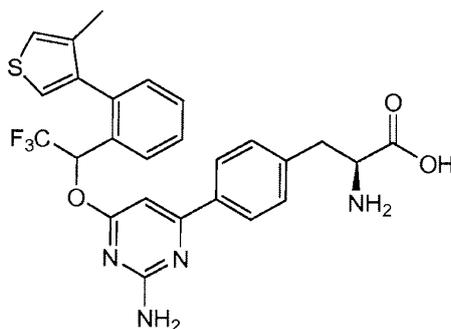
**6.5. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**

5 Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,027 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 2-piridin-4-il-benzaldehído (500 mg, 2,73 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (485 µl, 3,28 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción después se trató con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche.

10 El disolvente se evaporó a sequedad, se añadieron 9 ml de una solución acuosa de carbonato sódico 1 M, la fase acuosa se extrajo con cloroformo (3x10 ml) y la capa orgánica combinada se lavó con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. El disolvente orgánico se evaporó para dar 300 mg de 2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)etanol, rendimiento: 43 %.

15 La mezcla de 2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)etanol (100 mg, 0,40 mmol), 4,6-dicloro-pirimidina (54 mg, 0,38 mmol), carbonato de cesio (468 mg, 1,44 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron 10 ml de acetato de etilo, y después la mezcla se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró para dar 110 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidina, rendimiento: 76 %.

20 En un vial de microondas se mezclaron juntos 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidina (30 mg, 0,082 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (21 mg, 0,098 mmol), 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. Después, se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de dicloro-bis-(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por LC prep. para dar 19 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-piridin-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,94 (d, J=6Hz, 2H), 8,79(d, J=1,2Hz, 1H), 8,15(m, 4H), 7,84(t, J=5,2Hz, 1H), 7,62(m, 3H), 7,46(m, 3H), 6,66(q, J=6,4Hz, 1H), 4,31(q, J=6Hz, 1H), 3,41(m, 1H), 3,26(m, 1H).

**6.6. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**

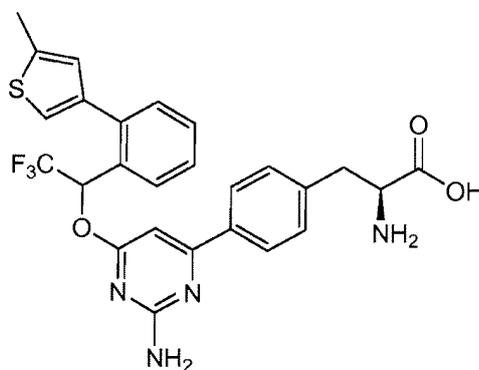
35 En un vial de microondas, se mezclaron juntos 3-bromo-4-metil-tiofeno (653 mg, 3,69 mmol), ácido 2-formil fenilborónico (500 mg, 3,36 mmol, y 7 ml de acetonitrilo). Después se añadieron 6,7 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la solución anterior, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, se añadieron 50 ml de acetato de etilo, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar el producto bruto, que se purificó por columna ISCO CombiFlash para dar 530 mg de ácido 2-(4-metil-tiofen-3-il)benzaldehído, rendimiento: 78 %.

45 Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,013 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 2-(4-metil-tiofen-3-il)benzaldehído (260 mg, 2,29 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (228 µl, 1,54 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción después se trató con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 340 mg de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etanol, rendimiento del 97 %.

Una mezcla de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etanol (100 mg, 0,37 mmol), 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (54 mg, 0,33 mmol), carbonato de cesio (481 mg, 1,48 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente; se añadieron 10 ml de acetato de etilo. Después la mezcla se filtró a través de Celite, el filtrado se concentró para dar 110 mg de 4-cloro-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-2-ilamina, rendimiento: 76 %.

En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-cloro-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-2-ilamina (30 mg, 0,075 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (19 mg, 0,09 mmol), 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. Después, se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de dicloro-bis-(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC prep. para dar 15,1 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-(4-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 7,94(d, J=8Hz, 2H), 7,80(s, 1H), 7,50(m, 5H), 7,25(m, 2H), 7,03(s, 1H), 6,94(s, 1H), 4,31(t, J=5,6, 1H), 3,48(m, 1H), 3,26(m, 1H), 1,98(s, 3H).

### 6.7. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico

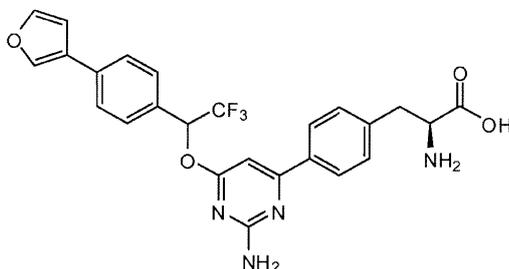


En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-bromo-2-metil-tiofeno (653 mg, 3,69 mmol), ácido 2-formil fenilborónico (500 mg, 3,36 mmol) y 7 ml de acetonitrilo. Se añadieron 6,7 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la solución anterior, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, se añadieron 50 ml de acetato de etilo, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó con sulfato sódico, el disolvente orgánico se evaporó para dar el producto bruto y el residuo se purificó por ISCO para dar 550 mg de ácido 2-(5-metil-tiofen-3-il)benzaldehído, rendimiento del 81 %.

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,028 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 2-(5-metil-tiofen-3-il)benzaldehído (550 mg, 1,29 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (483 µl, 3,27 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción después se trató con 10 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 650 mg de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etanol, rendimiento: 87 %.

Una mezcla de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etanol (100 mg, 0,37 mmol), 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (54 mg, 0,33 mmol), carbonato de cesio (481 mg, 1,48 mmol) y 1,4-dioxano (2 ml) se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente; se añadieron 10 ml de acetato de etilo. Después la mezcla se filtró a través de Celite, el filtrado se concentró para dar 90 mg de 4-cloro-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-2-ilamina, rendimiento: 68 %.

En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-cloro-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-2-ilamina (30 mg, 0,075 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (19 mg, 0,09 mmol), 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. Se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de dicloro-bis-(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por LC prep. para dar 10,1 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-(5-metil-tiofen-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 7,83(d, J=8,4Hz, 2H), 7,63(d, J=7,2Hz, 1H), 7,34(m, 4H), 7,26(m, 1H), 7,12(d, J=1,2Hz, 1H), 6,92(q, J=6,8, 1H), 6,82(d, J=1,2Hz, 1H), 6,64(s, 1H), 4,21(t, J=5,6Hz, 1H), 3,29(m, 1H), 3,20(m, 1H), 2,47(s, 3H).

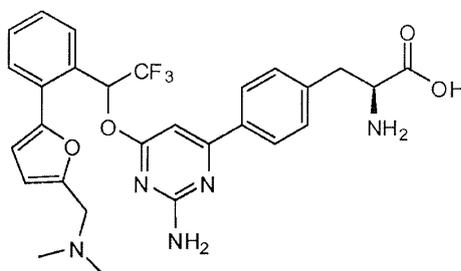
**6.8. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**

5 En un vial de microondas, se mezclaron juntos 3-bromo-furano (590 mg, 4,02 mmol), ácido 4-formil fenilborónico (600 mg, 4,02 mmol, y 7 ml de acetonitrilo. Se añadieron después 8 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 7 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, se añadieron 50 ml de acetato de etilo, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar el producto bruto, que se purificó por ISCO para dar 410 mg de 4-furan-3-il-benzaldehído, rendimiento: 60 %.

15 Se añadió fluoruro de tetrabutamonio (0,024 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 4-furan-3-il-benzaldehído (410 mg, 2,38 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (423 µl, 2,86 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción después se trató con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 480 mg de 2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il)-fenil]-etanol, rendimiento: 83 %.

20 La mezcla de 2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il)-fenil]-etanol (100 mg, 0,4 mmol), 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (60 mg, 0,36 mmol), carbonato de cesio (468 mg, 1,44 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente; se añadieron 10 ml de acetato de etilo. Después la mezcla se filtró a través de Celite, el filtrado se concentró para dar 110 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamina, rendimiento: 72 %.

25 En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamina (30 mg, 0,081 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (20 mg, 0,098 mmol), 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. Después, se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por LC prep. para dar 7,2 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-furan-3-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 7,96(m, 3H), 7,61(m, 5H), 6,81(s, 1H), 6,77(d, J=6,8Hz, 1H), 6,74(d, J=4,8Hz, 1H), 4,27(q, J=5,6Hz, 1H), 3,36(m, 1H), 3,21(m, 1H).

**6.9. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-{2-amino-6-[1-(2-(5-dimetilaminometil)-furan-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi]-pirimidin-4-il}-fenil]-propiónico**

40 Se añadió triacetoxiborohidruro (844 mg, 4 mmol) a una solución de 5-bromo-furan-2-carbaldehído (350 mg, 2 mmol) y dimetilamina (2 ml, solución 2 M en THF) en 10 ml de 1,2-dicloroetano (DCE). Después se añadieron 0,2 ml de HOAc. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, seguido de la adición de 15 ml de DCE. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 400 mg de (5-bromo-furan-2-ilmetil)-dimetil-amina, rendimiento: 97 %.

45 En un vial de microondas, se mezclaron juntos (5-bromo-furan-2-ilmetil)-dimetil-amina (385 mg, 1,88 mmol), ácido 2-formil fenilborónico (288 mg, 1,93 mmol) y 3,7 ml de acetonitrilo. Después, se añadieron 3,7 ml de carbonato sódico

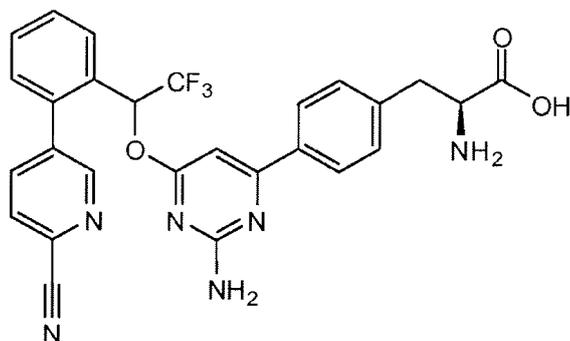
acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, se añadieron 20 ml de HCl 1 N. La mezcla se extrajo por acetato de etilo (3x10 ml) y la capa de acetato de etilo se descartó. Se añadió una solución de NaOH 1 N a la fase acuosa para ajustar el pH a 10, después se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se evaporó para dar 300 mg de 2-(4-dimetilaminometil-ciclopenta-1,3-dienil)-benzaldehído, rendimiento: 69 %.

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,013 ml; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 2-(4-dimetilaminometil-ciclopenta-1,3-dienil)-benzaldehído (287 mg, 1,25) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (222 µl, 1,5 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 250 mg de 1-[2-(5-dimetilaminometil-furan-2-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol, rendimiento del 66 %.

La mezcla de 1-[2-(5-dimetilaminometil-furan-2-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol (225 mg, 0,75 mmol), 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (111 mg, 0,67 mmol), carbonato de cesio (978 mg, 3,01 mmol) y 1,4-dioxano (3 ml) se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente; se añadieron 10 ml de acetato de etilo. Después la mezcla se filtró a través de Celite, el filtrado se concentró para dar 110 mg de 4-cloro-6-{1-[2-(5-dimetilaminometil-furan-2-il)-fenil]2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-2-ilamina, rendimiento del 87 %.

En un vial de microondas, se mezclaron juntos 4-cloro-6-{1-[2-(5-dimetilaminometil-furan-2-il)-fenil]2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-2-ilamina (37 mg, 0,087 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (22 mg, 0,10 mmol), 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. Después, se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por LC prep. para dar 16 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-{2-amino-6-{1-[2-(5-dimetilaminometil-furan-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 7,88(d, J=8,4Hz, 2H), 7,71(d, J=7,6Hz, 1H), 7,62(d, J=7,6Hz, 1H), 7,42(m, 2H), 7,40(d, J=1,6Hz, 2H), 7,34(d, J=8,4Hz, 1H), 6,89(q, J=3,6Hz, 2H), 6,66(s, 1H), 4,54(s, 2H), 4,20(q, J=6Hz, 1H), 3,3(m, 1H), 3,14(m, 1H), 2,84(s, 6H).

#### 6.10. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(6-ciano-piridin-3-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico



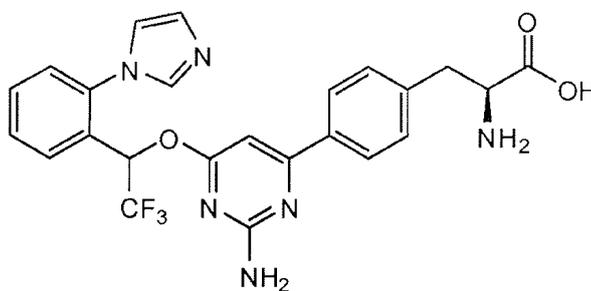
En un vial de microondas, se mezclaron juntos 5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-piridin-2-carbonitrilo (279 mg, 1,51 mmol), 2-bromo-benzaldehído (230 mg, 1 mmol) y 2 ml de acetonitrilo. Después, se añadieron 2 ml de carbonato sódico acuoso 1 N a la mezcla, seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis(trifenilfosfina)-paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 100 °C durante 10 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, se añadieron 50 ml de acetato de etilo, la capa orgánica se separó, se lavó con agua y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para el producto bruto que se purificó por ISCO para dar 150 mg de 5-(2-formil-fenil)-piridin-2-carbonitrilo, rendimiento del 72 %.

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (5,3 µl; solución 1,0 M en tetrahidrofurano) a una solución de 5-(2-formil-fenil)-piridin-2-carbonitrilo (110 mg, 0,53 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>) (120 µl, 0,81 mmol) en 5 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 5 ml de HCl 1 N y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 140 mg de 5-[2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)-fenil]-piridin-2-carbonitrilo, rendimiento del 95 %.

Una mezcla de 5-[2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)-fenil]-piridin-2-carbonitrilo (46 mg, 0,165 mmol), ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (59 mg, 0,15 mmol), carbonato de cesio (175 mg, 0,6 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml) se calentó a 110 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se vertió en 5 ml de agua. Se añadió HCl 1 N para ajustar el pH a 4,5, la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se evaporó para dar 80 mg de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(6-cianopiridin-3-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico bruto, rendimiento del 84 %.

Se disolvieron 80 g de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(6-cianopiridin-3-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico en la solución de ácido trifluoroacético al 30 % en diclorometano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por HPLC preparativa para dar 12,6 mg de ácido (S)-2-Amino-3[4-(2-amino-6-{1-[2-(6-ciano-piridin-3-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,86(s, 1H), 8,17(d, J=2Hz, 1H), 8,15(d, J=2Hz, 1H), 7,96(m,2H), 7,59(m,1H), 7,36(m, 3H), 6,7(s, 1H), 6,65(d, J=6,8Hz, 1H), 4,25(m, 1H), 3,47(m, 1H), 3,23(m, 1H).

#### 6.11. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-imidazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico

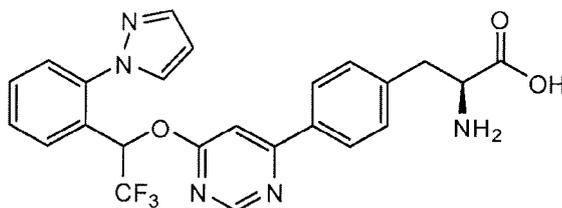


A 2-imidazol-1-il-benzaldehído (0,344 g, 2 mmol) en THF (8 ml) se añadió trifluorometiltrimetil silano (0,341 g, 2,4 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0-5 °C (baño de agua helada) y se añadió fluoruro de tetra-n-butil amonio (0,035 ml, 0,035 mmol, 1 M en THF). El baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Se añadió HCl 2 N (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó adicionalmente durante 3 horas a temperatura ambiente. El disolvente se retiró en el rotavapor a presión reducida. El residuo bruto se retiró para dar 2,2,2-trifluoro-1-(2-imidazol-1-il-fenil)-etanol (0,45 g, 93 %), que se usó directamente en la siguiente etapa.

2-Amino-4,6-dicloro pirimidina (0,107 g, 0,65 mmol), 2,2,2-trifluoro-1-(2-imidazol-1-il-fenil)-etanol (0,157 g, 0,65 mmol) y NaH (0,03 g, 0,78 mmol) se añadieron a THF anhidro (10 ml) en nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-imidazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-2-ilamina bruta (0,24 g, >90 % pura por CLEM), que se usó directamente en la siguiente etapa.

El intermedio bruto anterior (0,24 g), L-p-borono-fenilalanina (0,140 g, 0,67 mmol), carbonato sódico (0,14 g, 1,32 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (15 mg, 0,021 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (2,0 ml) y H<sub>2</sub>O (2,0 ml) en un vial de microondas. La mezcla de reacción se selló y se agitó en el reactor microondas a 150 °C durante 6 min. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-imidazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 499. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 3,20-3,41 (m, 2H), 4,30 (t, 1H), 6,61 (m, 1H), 6,88 (s, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,69 (d, 1H), 7,72-7,81 (m, 2H), 7,83 (m, 1H), 7,98 (m, 3H), 8,02 (m, 1H), 9,40 (m, 1H).

#### 6.12. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico



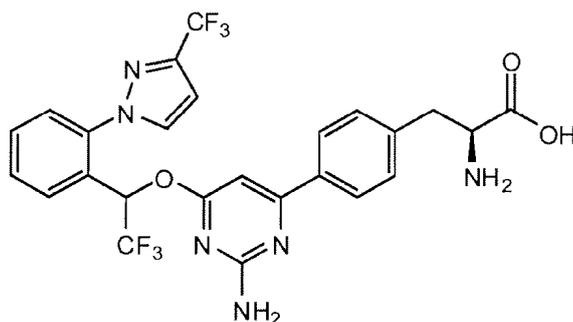
A 2-pirazol-1-il-benzaldehído (0,344 g, 2 mmol) en THF (8 ml) se añadió trifluorometil trimetil silano (0,341 g, 2,4 mmol). La mezcla se enfrió a 0-5 °C (baño de agua helada) y se añadió fluoruro de tetra-n-butil amonio (0,035 ml,

0,035 mmol, 1 M en THF). El baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Se añadió HCl 2 N (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se retiró en el rotavapor a presión reducida. El residuo bruto se disolvió en DCM (30 ml), se lavó con agua (20 ml), salmuera (20 ml) y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró al vacío para dar 2,2,2-trifluoro-1-(2-pirazol-1-il-fenil)-etanol (0,45 g, 93 %) bruto que se usó directamente en el siguiente experimento.

4,6-Dicloro pirimidina (0,082 g, 0,55 mmol), 2,2,2-trifluoro-1-(2-pirazol-1-il-fenil)-etanol (0,121 g, 0,50 mmol), NaH (0,03 g, 0,78 mmol) se añadieron a THF anhidro (10 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidina bruta (0,20 g, >90 % pura por CLEM), que se usó directamente en la siguiente etapa.

El intermedio bruto anterior (0,20 g), L-p-borono-fenilalanina (0,105 g, 0,50 mmol), carbonato sódico (0,105 g, 1 mmol), diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (15 mg, 0,021 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (2,0 ml) y H<sub>2</sub>O (2,0 ml) en un vial de microondas. El vial se selló y la mezcla de reacción se agitó en el reactor microondas a 150 °C durante 6 min. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y después se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 484. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 3,20-3,40 (m, 2H), 4,30 (t, 1H), 6,63 (s, 1H), 7,10 (m, 1H), 7,50 (m, 3H), 7,60 (m, 3H), 7,84 (m, 2H), 8,16 (m, 3H), 8,68 (s, 1H).

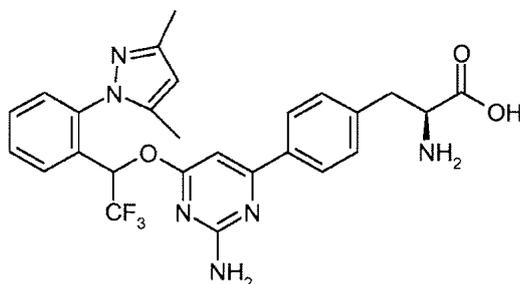
### 6.13. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico



2,2,2-Trifluoro-1-(2-yodo-fenil)-etanol (0,331 g, 1,1 mmol), 3-trifluorometil pirazol (0,136 g, 1,0 mmol), CuI (0,019 g, 0,1 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexano-1,2-diamina (0,028 g, 0,2 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un tubo de presión de 20 ml. La mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó por sulfato sódico. La retirada de disolvente dio producto bruto que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para dar 140 mg de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-trifluoro metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol.

2-Amino-4,6-dicloro pirimidina (0,074 g, 0,45 mmol), 2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-trifluoro metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (0,140 g, 0,45 mmol), NaH (0,022 g, 0,59 mmol) se añadieron a THF anhidro (10 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamina bruta (0,21 g, >90 % pura por CLEM), que se usó directamente en la siguiente etapa.

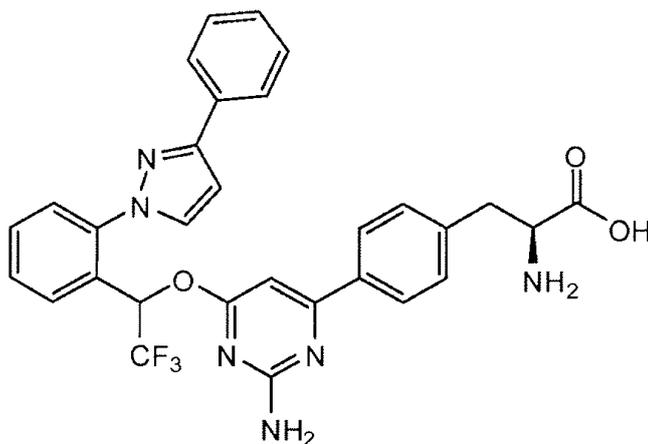
El intermedio bruto (0,21 g), L-p-borono-fenilalanina (0,1 g, 0,48 mmol), carbonato sódico (0,1 g, 0,94 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (15 mg, 0,021 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (2,0 ml) y H<sub>2</sub>O (2,0 ml) en un vial de microondas. El vial se selló y la mezcla de reacción se agitó en el reactor microondas a 150 °C durante 6 min. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 567. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 3,2 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 4,30 (t, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,85 (m, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,59 (m, 1H), 7,68 (m, 2H), 7,88 (m, 1H), 7,95 (d, 2H), 8,20 (1H).

**6.14. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(3,5-dimetil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

5 2,2,2-Trifluoro-1-(2-yodo-fenil)-etanol (0,331 g, 1,1 mmol), 3-trifluorometil pirazol (0,136 g, 1,0 mmol), CuI (0,019 g, 0,1 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,290 g, 2,1 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexano-1,2-diamina (0,028 g, 0,2 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un tubo de presión de 20 ml y la mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 12 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó por sulfato sódico. La retirada de disolvente dio producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para dar 1-[2-(3,5-dimetil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol (120 mg).

15 2-Amino-4,6-dicloro pirimidina (0,074 g, 0,45 mmol), 1-[2-(3,5-dimetil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetanol (0,120 g, 0,45 mmol), NaH (0,022 g, 0,59 mmol) se añadieron a THF anhidro (10 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,2 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-{1-[2-(3,5-dimetil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-2-ilamina bruta (0,195 g, >90 % pura por CLEM) que se usó directamente en la siguiente etapa.

20 El intermedio bruto (0,195 g), L-p-borono-fenilalanina (0,1 g, 0,48 mmol), carbonato sódico (0,10 g, 0,95 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (15 mg, 0,021 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (2,0 ml) y H<sub>2</sub>O (2,0 ml) en un vial de microondas. El vial se selló y la mezcla de reacción se calentó en el reactor microondas a 150 °C durante 6 min. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(3,5-dimetil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 527. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 4,32 (t, 1H), 3,39 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 7,92 (m, 3H), 7,68 (m, 2H), 7,50 (d, 2H), 7,42 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,17 (s, 1H).

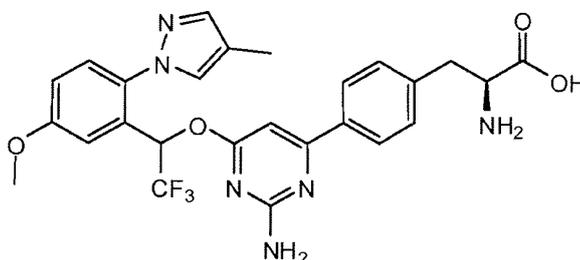
**6.15. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-fenil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

35 2,2,2-Trifluoro-1-(2-yodo-fenil)-etanol (0,331 g, 1,1 mmol), 3-fenil pirazol (0,144 g, 1,0 mmol), CuI (0,019 g, 0,1 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,290 g, 2,1 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexano-1,2-diamina (0,028 g, 0,2 mmol) y tolueno (10 ml) se tomaron en un tubo de presión de 20 ml y la mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 12 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La retirada de disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para proporcionar 2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-fenil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (75 mg).

2-Amino-4,6-dicloro pirimidina (0,074 g, 0,45 mmol), 2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-fenil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (0,070 g, 0,22 mmol) y NaH (0,012 g, 0,31 mmol) se añadieron a THF anhidro (10 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,04 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-fenil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamina  
5 bruta (0,110 g, >90 % pura por CLEM) que se usó directamente en la siguiente etapa.

El intermedio bruto (0,110 g), L-p-borono-fenilalanina (0,050 g, 0,24 mmol), carbonato sódico (0,050 g, 0,48 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (8 mg, 0,010 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (2,0 ml) y H<sub>2</sub>O (2,0 ml) en un vial de microondas. El vial se selló y la mezcla de reacción se calentó en el reactor microondas a 150 °C  
10 durante 6 min. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-fenil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 575. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 3,20 (m, 1H), 3,38 (m, 1H), 4,30 (t, 1H), 6,80 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 7,30-7,48 (m, 7H), 7,62 (m, 3H), 7,90 (m, 4H), 8,10 (s, 1H).

15 **6.16. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[5-metoxi-2-(4-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

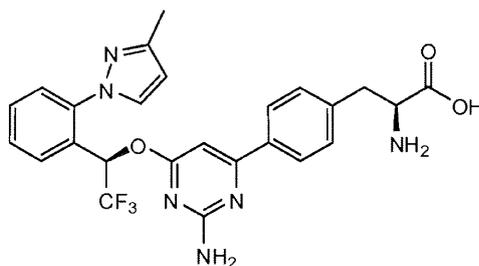


20 1-(2-Bromo-5-metoxi-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (0,570 g, 2,0 mmol), 4-metil pirazol (0,164 g, 2,0 mmol), CuI (0,057 g, 0,3 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,580 g, 4,2 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexan-1,2-diamina (0,071 g, 0,5 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un tubo de presión de 20 ml y la mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 12 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La retirada de disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para proporcionar 2,2,2-trifluoro-1-[5-metoxi-2-(4-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (90 mg).  
25

2,2,2-Trifluoro-1-[5-metoxi-2-(4-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (0,090 g, 0,31 mmol), ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (0,122 g, 0,31 mmol), 1,4-dioxano (2 ml), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,503 g, 1,55 mmol), se combinaron en un vial de microondas y se calentó a 180 °C durante 45 min. La mezcla se filtró y se concentró. Al residuo, se añadió metanol al 5 % en DCM (50 ml). La mezcla se filtró. El filtrado se concentró para dar producto bruto que se tomó en TFA al 20 % en DCM (30 ml) y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La CLEM indicó que se completó la reacción con el producto deseado. La mezcla de reacción se concentró para dar  
30 el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[5-metoxi-2-(4-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico.

40 CLEM: M+1 = 543. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,20 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,35 (t, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,98 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,66 (d, 2H), 7,96 (d, 2H).

**6.17. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-(R)-2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**



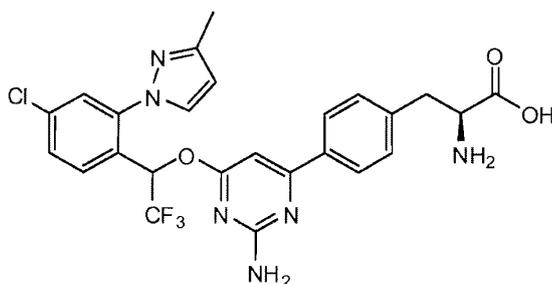
45 R-1-(2-Bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (1,53 g, 6 mmol), 3-metil pirazol (0,492 g, 6 mmol), CuI (0,456 g, 2,4 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,07 g, 15 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexan-1,2-diamina (0,170 g, 1,2 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un tubo de presión de 20 ml y la mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante

12 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La retirada de disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para dar R-2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (1,8 mg).

5 2-Amino-4,6-dicloro pirimidina (1,12 g, 7,4 mmol), R-2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (1,8 g, 7,03 mmol) y NaH (0,380 g, 10 mmol) se añadieron a THF anhidro (40 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a 40-45 °C durante 6 h y después se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua (0,1 ml). La mezcla de reacción se concentró para dar 4-cloro-6-[R-2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamine  
10 bruta (3,0 g, >90 % pura por CLEM) que se usó directamente en la siguiente etapa.

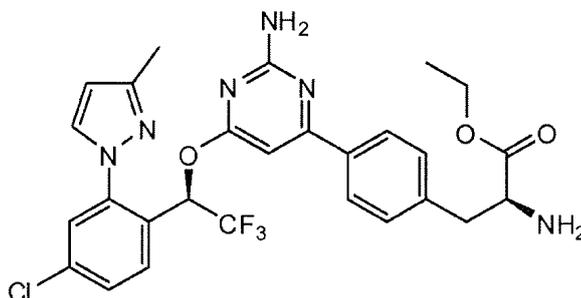
El intermedio bruto (0,750 g), L-p-borono-fenilalanina (0,420 g, 2,0 mmol), carbonato sódico (0,430 g, 4,0 mmol) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (30 mg, 0,043 mmol) se disolvieron en una mezcla de MeCN (7,0 ml) y H<sub>2</sub>O (7,0 ml) en un vial de microondas. El vial se selló y la mezcla de reacción se calentó en el reactor microondas a 150 °C  
15 durante 7 min. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido  
20 (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-[(R)-2,2,2-trifluoro-1-[2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 514. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,40 (s, 3H), 3,30 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 4,38 (t, 1H), 6,21 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,61 (m, 4H), 7,82 (m, 2H), 7,97 (d, 2H).

#### 6.18. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico



25 1-(4-Cloro-2-yodo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (0,840 g, 2,5 mmol), 3-metil pirazol (0,230 g, 2,8 mmol), CuI (0,190 g, 1,0 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,863 g, 6,25 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexan-1,2-diamina (0,071 g, 0,5 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un tubo de presión de 20 ml y la mezcla se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 12 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 20 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para proporcionar 1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol (240 mg).

35 1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol (0,120 g, 0,41 mmol), ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (0,176 g, 0,45 mmol), 1,4-dioxano (42 ml) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,533 g, 1,64 mmol) se combinaron en un tubo sellado de 20 ml y la mezcla se calentó a 100 °C durante 12 min. La mezcla concentró. Al residuo, se añadió metanol al 10 % en DCM (50 ml) y la mezcla se filtró. El filtrado se concentró para dar producto bruto que se tomó en THF/HCl 3 N (30 ml/15 ml) y la mezcla resultante se agitó a 40-45 °C durante 12  
40 h. La CLEM indicó que se completó la reacción con el producto deseado. La mezcla de reacción se concentró para dar el producto bruto, que se disolvió en MeOH y H<sub>2</sub>O (1:1) y se purificó por HPLC preparativa usando MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA como sistema disolvente para dar ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico como una sal de TFA. CLEM: M+1 = 547. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,30 (s, 3H), 3,10-3,30 (m, 2H), 4,20 (t, 1H), 6,32 (d, 1H), 6,74 (s, 1H), 7,0 (q, 1H), 7,38 (d, 2H), 7,50 (m, 2H), 7,72 (m, 1H), 7,90 (m, 3H).

**6.19. Síntesis de etil éster de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

5

El compuesto del título se preparó paso a paso, como se describe a continuación:

5 Etapa 1: Síntesis de 1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanona. A un matraz RB de 2 bocas de 500 ml que  
 10 contenía metanol anhidro (300 ml) se añadió cloruro de tionilo (29,2 ml, 400 mmol) gota a gota a 0-5 °C (baño de  
 agua helada) durante 10 min. El baño de agua helada se retiró y se añadió ácido 2-bromo-4-cloro-benzoico (25 g,  
 106 mmol). La mezcla se calentó a reflujo suave durante 12 h. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC y  
 CLEM. Después de completarse la reacción, la mezcla de reacción se concentró. El producto bruto se disolvió en  
 15 diclorometano (DCM, 250 ml), se lavó con agua (50 ml), NaHCO<sub>3</sub> (50 ml), salmuera (50 ml), se secó sobre sulfato  
 sódico y se concentró para dar el metil éster del ácido 2-bromo-4-cloro-benzoico (26 g, 99 %), que se usó  
 directamente en la siguiente etapa.

20 El metil éster del ácido 2-bromo-4-cloro-benzoico (12,4 g, 50 mmol) en tolueno (200 ml) se enfrió a -70 °C, y se  
 añadió trifluorometil trimetil silano (13 ml, 70 mmol). Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M, 2,5 ml) gota a gota,  
 y la mezcla se permitió calentar a temperatura ambiente durante 4 h, después de lo que se agitó durante 10 h a  
 temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró para dar el [1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-1-  
 metoxietoxi]-trimetil-silano bruto. El intermedio bruto se disolvió en metanol (100 ml) y se añadió HCl 6 N (100 ml). La  
 25 mezcla se mantuvo a 45-50 °C durante 12 h. Se retiró el metanol y el bruto se extrajo con diclorometano (200 ml). La  
 capa de DCM combinada se lavó con agua (50 ml), NaHCO<sub>3</sub> (50 ml), salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato  
 sódico. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO, usando  
 acetato de etilo al 1-2 % en hexano como disolvente, para proporcionar 1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-  
 etanona (10 g, 70 %). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 7,50 (d, 1H), 7,65(d, 1H), 7,80(s, 1H).

30 Etapa 2: Síntesis de R-1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol. A borano catecol (1 M en THF 280 ml, 280  
 mmol) en un matraz RB de 3 bocas de 2 l se añadió S-2-metil-CBS oxazaborolidina (7,76 g, 28 mmol) en nitrógeno,  
 y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C  
 (baño de hielo seco/acetona) y se añadió gota a gota 1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanona (40 g, 139  
 mmol) en THF (400 ml) durante 2 h. La mezcla de reacción se dejó calentar a -36 °C y se agitó a esa temperatura  
 durante 24 h y se agitó adicionalmente a -32 °C durante otras 24 h. Se añadió NaOH 3 N (250 ml) y el baño de  
 35 enfriamiento se reemplazó por un baño de agua helada. Después se añadió gota a gota peróxido de hidrógeno al 30  
 % en agua (250 ml) durante 30 minutos. El baño de agua helada se retiró y la mezcla se agitó a temperatura  
 ambiente durante 4 h. La capa orgánica se separó, se concentró y se re-disolvió en éter (200 ml). La capa acuosa se  
 extrajo con éter (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaOH ac. 1 N (4 x 100 ml), salmuera  
 y se secó sobre sulfato sódico. La retirada del disolvente dio producto bruto que se purificó por cromatografía en  
 columna usando acetato de etilo del 2 al 5 % en hexano como disolvente para dar el alcohol deseado 36,2 g (90 %,  
 40 e.e. > 95 %). El alcohol (36,2 g) se cristalizó a partir de hexano (80 ml) para obtener R-1-(2-bromo-4-cloro-fenil)-  
 2,2,2-trifluoro-etanol 28,2 g (70 %; 99-100 % e.c.). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 5,48 (m, 1H), 7,40 (d, 1H),  
 7,61 (d, 2H).

45 Etapa 3: Síntesis de R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetanol. Se combinaron R-1-(2-bromo-4-  
 cloro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (15,65 g, 54,06 mmol), 3-metilpirazol (5,33 g, 65 mmol), CuI (2,06 g, 10,8 mmol),  
 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15,7 g, 113,5 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexan-1,2-diamina (1,54 g, 10,8 mmol) y tolueno (80 ml) en  
 un tubo de presión de 250 ml y se calentó a 130 °C (temperatura del baño de aceite) durante 12 h. La mezcla de  
 reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (4 x 100 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La  
 retirada de disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de  
 50 etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para obtener R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetanol  
 (13,5 g, 86 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 2,30(s, 3H), 4,90(m, 1H), 6,20(s, 1H), 6,84(d, 1H), 7,20(s, 1H),  
 7,30(d, 1H), 7,50(d, 1H).

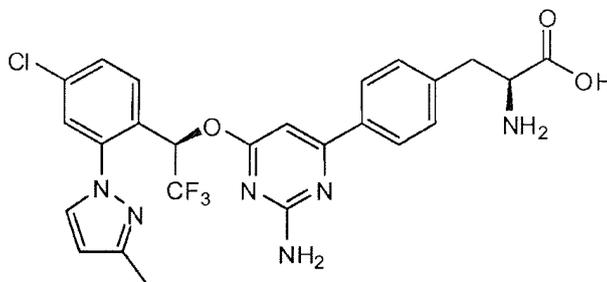
55 Etapa 4: Síntesis de etil éster del ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-  
 trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetanol (17,78 g,  
 61,77 mmol), ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilaminopropiónico (20,03 g, 51

mmol), 1,4-dioxano (250 ml) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (79,5 g, 244 mmol) se combinaron en un matraz RB de 500 ml de 3 bocas y se calentó a 100 °C (temperatura del baño de aceite) durante 12-24 h. El progreso de la reacción se monitorizó por CLEM. Después de completarse la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a 60 °C y se añadieron agua (250 ml) y THF (400 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (150 ml). El disolvente se retiró para dar un producto bruto protegido con BOC, que se tomó en THF (400 ml), HCl 3 N (200 ml). La mezcla se calentó a 35-40 °C durante 12 h. Se retiró el THF al vacío. La capa acuosa restante se extrajo con acetato de isopropilo (2 x 100 ml) y se concentró separadamente para recuperar el alcohol sin reaccionar (3,5 g). Se retiraron las trazas de disolvente orgánico restantes de la fracción acuosa al vacío.

A un vaso de precipitados de 1 l equipado con un controlador de temperatura y un pH metro, se añadió  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (40 ml, 85 % en agua) y agua (300 ml) después NaOH al 50 % en agua para ajustar el pH a 6,15. La temperatura se elevó a 58 °C y la solución acuosa ácida anterior se añadió gota a gota en el tampón con la adición simultánea de solución de NaOH al 50 % en agua de tal manera que el pH se mantuvo entre 6,1 y 6,3. Tras completarse la adición, el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua caliente (50-60 °C) (2 x 200 ml) y se secó para dar ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico bruto (26,8 g; 95 %). Los análisis CLEM y HPLC indicaron que la pureza del compuesto era aproximadamente el 96-97 %.

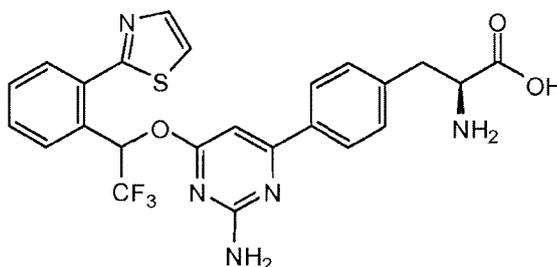
A etanol anhidro (400 ml) se añadió  $\text{SOCl}_2$  (22 ml, 306 mmol) gota a gota a 0-5 °C. Se añadió ácido bruto (26,8 g) de la reacción anterior. El baño de agua helada se retiró y la mezcla de reacción se calentó a 40-45 °C durante 6-12 h. Después de completarse la reacción, se retiró el etanol al vacío. Al resto se añadió agua helada (300 ml) y se extrajo con acetato de isopropilo (2 x 100 ml). La solución acuosa se neutralizó con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  saturado para ajustar el pH a 6,5. La solución se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). La capa de acetato de etilo combinada se lavó con salmuera y se concentró para dar 24 g de éster bruto (pureza de HPLC del 96-97 %). El éster bruto se purificó después por cromatografía en columna ISCO usando etanol al 5 % en DCM como disolvente para dar etil éster del ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico (20,5 g; 70 %; pureza de HPLC del 98 %). CLEM M+1 = 575. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm) 1,10 (t, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,85 (m, 2H), 3,65 (m, 1H), 4,00 (q, 2H), 6,35 (s, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,90 (m, 1H), 7,18 (d, 2H), 7,45 (m, 2H), 7,70 (d, 1H), 7,85 (m, 3H).

#### 6.20. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil]propiónico



El etil éster del ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico (22,2 g, 38,6 mmol) se disolvió en THF (200 ml) y agua (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se retiró el THF y se añadió agua (100 ml) al residuo para obtener la solución transparente.

A un vaso de precipitados de 1 l equipado con un con un controlador de temperatura y un pH metro se añadió  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (40 ml, 85 % en agua), agua (300 ml) y NaOH al 50 % en agua para ajustar el pH a 6,15. La temperatura se elevó a 58 °C y la sal de Li acuosa del compuesto se añadió gota a gota en el tampón con la adición simultánea de solución de HCl 3 N de tal manera que el pH se mantuvo de 6,1 a 6,2. Tras completarse la adición, el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua caliente (50-60 °C) (2 x 200 ml) y se secó para dar ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico bruto (13,39 g; 92 %). Los análisis CLEM y HPLC indicaron que la pureza del compuesto era aproximadamente el 98-99 %. CLEM M+1 = 547. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm) 2,40 (s, 3H), 3,22-3,42 (m, 2H), 4,38 (t, 1H), 6,42 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,60 (m, 4H), 7,81 (d, 1H), 7,92 (m, 3H).

**6.21. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-tiazol-2-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil]-propiónico**

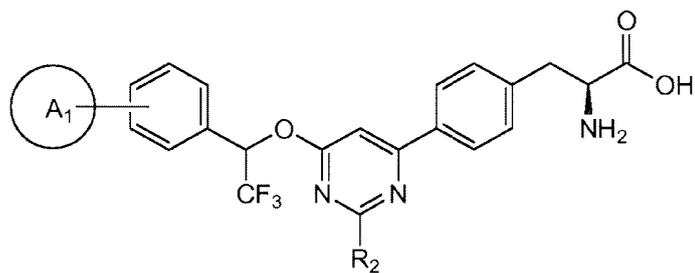
5 A un reactor microondas de 40 ml, se añadieron 1,04 g de ácido 2-formil fenilborónico (6,9 mmoles), 1,14 g de 2-bromo tiazol (6,9 mmoles), 240 mg de dicloruro de bistrifenil-fosfina paladio (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0,34 mmoles). Después, se añadieron 13,8 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M (13, 8 mmoles) y 10 ml de CH<sub>3</sub>CN a la mezcla. El reactor se selló y la reacción se ejecutó en microondas a 160 °C durante 5 minutos. CLEM muestra que se completa la reacción con el producto deseado. La mezcla de reacción después se vertió en un embudo de separación. Después se añadieron 200 ml de cloruro de metileno y 100 ml de agua para la extracción. La capa de cloruro de metileno se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice eluyendo con una mezcla de hexanos/acetato de etilo (5/1 a 2/1) para dar 2-tiazol-2-il-benzaldehído puro (0,5 g, rendimiento: 38 %).

15 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se añadieron 184 mg de 2-tiazol-2-il-benzaldehído (0,97 mmoles) y 10 ml de tetrahidrofurano (THF) anhidro. Después, se añadieron 145,4 mg de trifluorometiltrimetilsilano (1,02 mmoles) y 20 µl de fluoruro de terc-butilamonio 1 M en THF (0,02 mmoles) a la solución. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, después de lo que se añadieron 10 ml de HCl 1 N y la mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 15 minutos. Se retiró el THF al vacío y la mezcla se extrajo con cloruro de metileno (3 x 50 ml). La capa combinada de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que fue aproximadamente un 95 % puro, y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

25 2,2,2-Trifluoro-1-(2-tiazol-2-il-fenil)-etanol (260 mg, 1 mmoles), ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (390 mg, 1 mmol), carbonato de cesio (1,3 g, 4 mmoles) y 10 ml de 1,4-dioxano se mezclaron juntos en un tubo sellado de 50 ml. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 3 días. Se añadió agua (20 ml) y después se añadió lentamente HCl ac. 1 N para ajustar el pH a 4, después se retiró el 1,4-dioxano al vacío y la mezcla resultante se extrajo con cloruro de metileno (3 x 50 ml). La capa de cloruro de metileno combinada se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se tomó hacia la siguiente etapa sin purificación adicional.

35 El producto bruto anterior se disolvió en 5 ml de cloruro de metileno y se añadieron 0,4 ml de ácido trifluoroacético. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El ácido trifluoroacético se retiró después al vacío para dar un producto bruto, que se purificó por HPLC prep para dar 63 mg de producto puro. HPLC; YMC Pack ODS-A 3x50 mm, 7µm; Disolvente A = agua con TFA al 0,1 %; Disolvente B = metanol con TFA al 0,1 %, Disolvente B del 10 al 90 % durante 4 minutos; Caudal = 2 ml/min; TR = 3 min, pureza de HPLC = 100 %. CLEM: M+1 = 515,9. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,06 ppm (2H, m); 7,92 (2H, d, J=8 Hz); 7,84(1H, m); 7,81 (1H, m); 7,77 (1H, d, J = 4 Hz); 7,57 (2H, m); 7,45 (2H, d, J = 8 Hz); 6,84 (1H, s); 4,30 (2H, dd, J = 8 Hz); 3,38 (2H, dd, J = 12, 2 Hz); 3,23 (2H, dd, J = 12, 8 Hz).

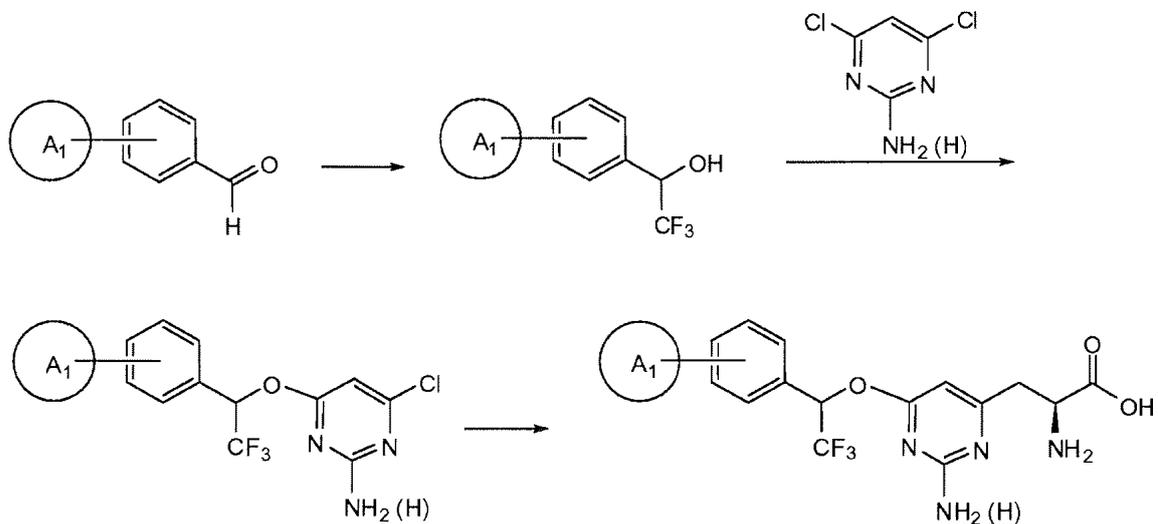
45 **6.22. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico; ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-[4-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico; ácido (S)-2-Amino-3-[4-(6-[2,2,2-trifluoro-1-[4-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il) fenil]-propiónico; ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-tiofen-2-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico; ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-imidazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico; y ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**



A <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
	NH <sub>2</sub>
	NH <sub>2</sub>
	H
	NH <sub>2</sub>
	H
	NH <sub>2</sub>

Los compuestos del título se prepararon usando el enfoque general mostrado a continuación:

5



En este enfoque, se añadió fluoruro de tetra-n-butil amonio (0,05 eq.) a una mezcla de benzaldehído sustituido (1 eq.) y trifluorometil trimetilsilano (1,2 eq.) en THF a 0 °C. La temperatura después se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, después se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua, salmuera y se secó por MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se retiró a presión reducida para dar el trifluoroalcohol como producto bruto, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El alcohol producido anteriormente (1 eq.) se disolvió en 1,4-dioxano anhidro. Se añadió hidruro sódico (60 % en aceite mineral, 1,2 eq.) de una vez, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (1 eq.) y la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 2 h. El disolvente se retiró y el residuo se suspendió en acetato de etilo, que se lavó con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y después se concentró para dar el producto monocloruro deseado, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El producto bruto anterior (1 eq.) se añadió a un vial de microondas de 5 ml que contiene 4-borono-L-fenilalanina (1 eq.), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 eq.), acetonitrilo (2 ml), agua (2 ml) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (0,05 eq.). El vial se tapó y la mezcla se calentó a 150 °C durante 5 min en radiación microondas. La mezcla se enfrió, se filtró a través de un filtro de jeringa y después se separó por una HPLC preparativa de fase inversa usando una columna YMC-Pack ODS 100x30 mm ID (sistema MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron al vacío. El producto se suspendió después en 5 ml de agua, se congeló y se liofilizó para dar el producto como una sal de ácido trifluoroacético (TFA).

Ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,05-3,40 (m, 2H), 3,81 (m, 1H), 6,64 (s, 1H), 7,01(d, 1H), 7,15-7,54 (m, 7H), 7,74 (d, 1H), 7,94 (d, 2H), 8,35 (m, 2H).

Ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,20-3,41 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 6,81 (m, 2H), 7,17 (m, 2H), 7,46-7,69 (m, 6H), 7,93 (d, 2H), 8,41 (s, 2H).

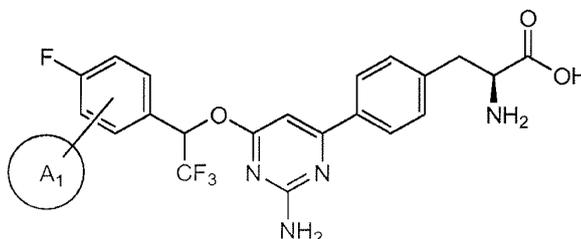
Ácido (S)-2-Amino-3-[4-(6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-(piridin-3-iloxi)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,15-3,35 (m, 2H), 4,25 (t, 1H), 6,90 (q, 1H), 7,25 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,71 (m, 3H), 7,99 (m, 3H), 8,14-8,18 (m, 1H), 8,55 (d, 1H), 8,63 (d, 1H), 8,84 (d, 1H).

Ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-(4-tiofen-2-il-fenil)-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,03-3,31 (m, 2H), 4,19 (m, 1H), 6,68 (m, 2H), 7,00 (m, 1H), 7,31-7,36 (m, 4H), 7,52 (m, 2H), 7,62 (d, 2H), 7,85 (d, 2H).

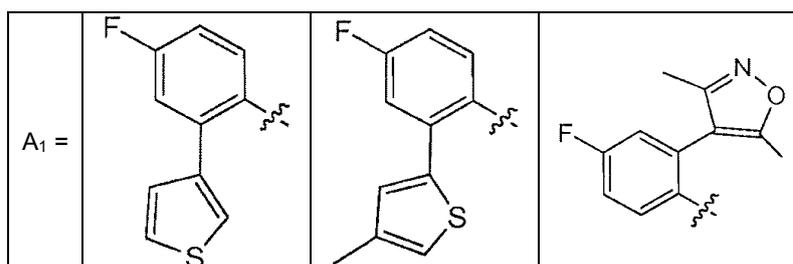
Ácido (S)-2-Amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-imidazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,03-3,31 (m, 2H), 4,19 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 7,32-8,63 (m, 11H), 8,64 (s, 1H), 9,25 (s, 1H).

Ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-[1,2,4]triazol-1-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,07-3,36 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,75 (m, 1H), 7,31 (d, 2H), 7,69 (d, 2H), 7,85 (m, 4H), 8,08 (s, 1H), 9,03 (s, 1H).

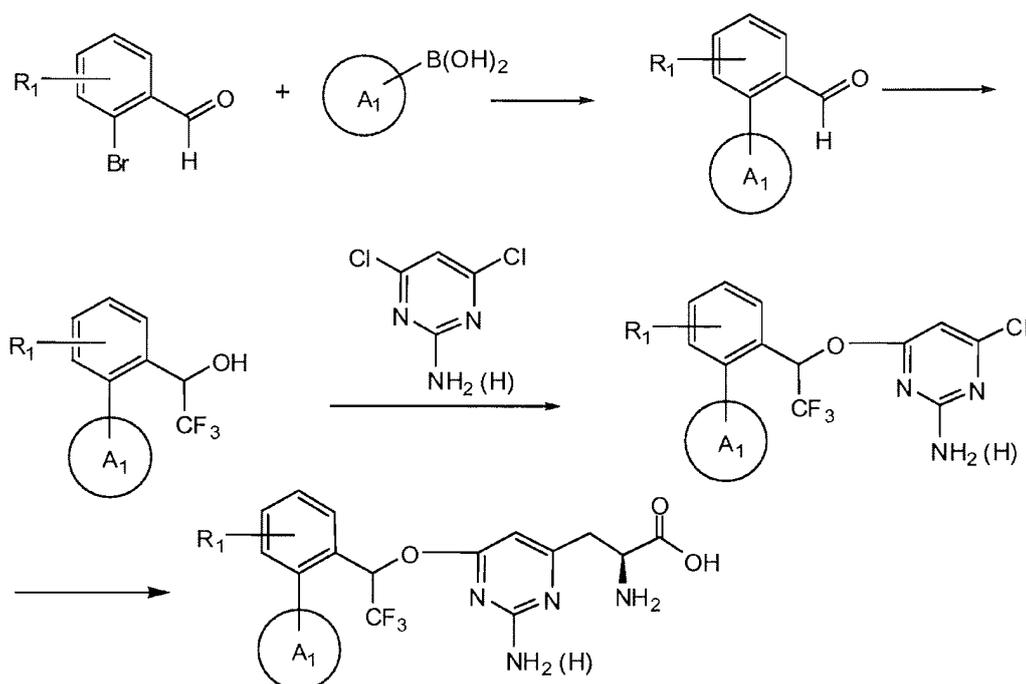
**6,23, Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-tiofen-3-il-fenil)etoxil-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico; ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-fluoro-2-(4-metil-tiofen-2-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico; y ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{1-(2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-il)-4-fluoro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**



50



Los compuestos del título se prepararon usando el enfoque general mostrado a continuación:



5

En este enfoque, el bencil aldehído bromo sustituido (1 eq) se añadió a un vial de microondas de 20 ml, que contenía ácido borónico heterocíclico aromático (1 eq), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 eq), acetonitrilo (8 ml) / agua (8 ml) y dicloro-bis(trifenilfosfina)-paladio (0,05 eq). El vial se tapó y se agitó a 150 °C durante 6 min en radiación microondas. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de un filtro de jeringa y después se diluyó con acetato de etilo. Se lavó con agua. Se añadió después gel de sílice para hacer un tapón y se purificó por cromatografía se eluyó con hexano y acetato de etilo.

10

Los aldehídos producidos anteriormente se sometieron a las mismas reacciones descritas anteriormente en el Ejemplo 22.

15

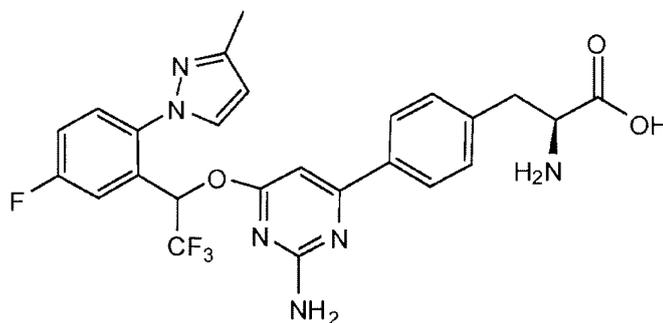
Ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-tiofen-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 3,08-3,30 (m, 2H), 4,19 (m, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,84 (m, 1H), 7,02-7,013 (m, 2H), 7,22 (dd, 1H), 7,32(d, 2H), 7,47 (m, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,84 (d, 2H).

20

Ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-(4-metil-tiofen-2-il)-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 2,26 (s, 3H), 3,09-3,30 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,95 (m, 2H), 7,13 (m, 3H), 7,34 (d, 2H), 7,69(m, 1H), 7,83 (d, 2H).

25

Ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-il)-4-fluoro-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 1,89-2,19 (m, 6H), 2,97-3,30 (m, 2H), 3,83 (m, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,74-6,87 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 7,7,24-7,33 (m, 3H), 7,88 (m, 3H).

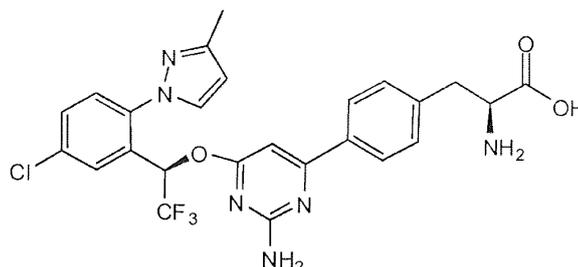
**6.24. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

5 La mezcla de metil éster de ácido 2-bromo-5-fluoro-benzoico (1 g, 4,292 mmol), NaBH<sub>4</sub> (0,423 g, 11,159 mmol) y LiCl (0,474 g, 11,159 mmol) en THF/BtOH (20 ml/10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se añadió HCl acuoso (10 ml, 2 N) y se agitó durante aproximadamente 10 min. Después se retiró el disolvente orgánico en bajo vacío. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso (10 %), agua y salmuera y después se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró para producir 852 mg (96,8 % de rendimiento bruto) de producto bruto, (2-bromo-5-fluoro-fenil)metanol, como un sólido blanco, que se usó sin purificación adicional.

15 A la solución de (2-bromo-5-fluoro-fenil)metanol (0,852 g, 4,156 mmol) en DCM (15 ml) se añadió MnO<sub>2</sub> (4,254 g, 85 %, 41,56 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante dos días y después se filtró y se lavó con DCM. El filtrado se concentró para proporcionar 777 mg de 2-bromo-5-fluoro-benzaldehído (rendimiento del 92 %). El aldehído nuevamente producido (0,777 g, 3,828 mmol) se disolvió después en THF anhidro (10 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió trifluorometil trimetilsilano (1,13 ml, 7,656 mmol) y seguido de fluoruro de tetrabutil amonio (0,020 g, 0,076 mmol). La temperatura se dejó calentar después a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 5 h a temperatura ambiente, después se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua, salmuera y se secó por MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se retiró a presión reducida para dar 2-bromo-5-fluoro-fenil)2,2,2-trifluoroetanol, 1,1 g (pureza del 90 %) como un producto bruto, que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

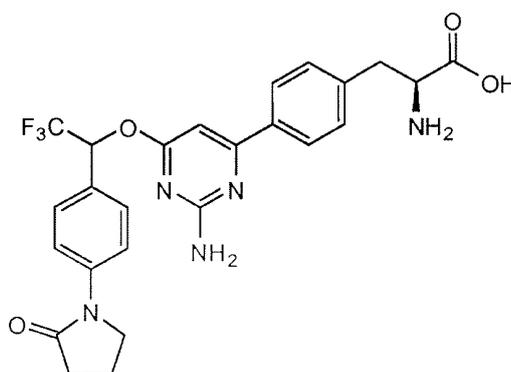
25 2-Bromo-5-fluoro-fenil)2,2,2-trifluoroetanol (0,990 g, 3,263 mmol, 90 %), 3-metil pirazol (0,476 g, 4,895 mmol), CuI (0,367 g, 1,632 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,334 g, 8,158 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexano-1,2-diamina (0,110 g, 0,653 mmol) y tolueno (10 ml) se combinaron en un vial de microondas de 20 ml, que se selló y se calentó a 180 °C durante 40 min. La mezcla se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se lavó con agua 3 veces y después se añadió gel de sílice para hacer un tapón. El compuesto se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para dar 1-(5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol 75 mg. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 2,29(s, 3H), 4,90(m, 1H), 6,21(d, 1H), 7,07-7,11 (m, 1H), 7,19-7,22(m, 1H), 7,29-7,32(m, 1H), 7,51 (d, 1H).

35 El alcohol producido anteriormente (0,075 g, 0,273 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano anhidro (3 ml). Se añadió hidruro sódico (0,013 g, 0,328 mmol, 60 % en aceite mineral) de una vez, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (0,045 g, 0,273 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C durante aproximadamente 2 horas. El disolvente se retiró y el residuo se suspendió en acetato de etilo, que se lavó con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y después se concentró para dar el producto monoclóruo deseado 100 mg (0,249 mmol), que se añadió a un vial de microondas de 5 ml que contenía 4-borono-L-fenilalanina (0,052 g, 0,249 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,053 g, 0,498 mmol), acetonitrilo (2 ml) / agua (2 ml) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (5 mg, 0,007 mmol). El vial se tapó y se agitó a 150 °C durante 5 min en radiación microondas. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de un filtro de jeringa y después se separó por una HPLC preparativa de fase inversa usando una columna YMC-Pack ODS 100x30 mm ID (sistema MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA). Las fracciones puras se concentraron al vacío. El producto se suspendió después en 5 ml de agua, se congeló y se liofilizó para dar ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico, 37 mg como una sal trifluoro. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 2,29 (s, 3H), 3,08-3,30 (m, 2H), 4,19 (q, 1H), 6,32 (d, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,85 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,75 (d, 1H), 7,87 (d, 2H).

**6.25. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6{2,2,2-trifluoro-1-[5-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

5 El compuesto del título se preparó a partir de R-1-[5-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol, que se preparó usando el mismo enfoque que se describe anteriormente para R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol. En particular, R-1-[5-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol (0,959 g, 3,318 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano anhidro (8 ml). Se añadió hidruro sódico (0,159 g, 3,982 mmol, 60 % en aceite mineral) de una vez, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (0,554 g, 3,318 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C durante aproximadamente 2 horas. El disolvente se retiró y el residuo se suspendió en acetato de etilo, que se lavó con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y después se concentró para dar el producto monocloruro deseado 1,38 g, que se usó directamente sin purificación adicional.

15 El monocloruro (0,460 g, 1,104 mmol) producido anteriormente se añadió a un vial de microondas de 20 ml, que contenía 4-borono-L-fenilalanina (0,277 g, 1,325 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,234 g, 2,208 mmol), acetonitrilo (8 ml) / agua (8 ml) y diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (0,039 g, 0,055 mmol). El vial se tapó y la mezcla se agitó a 150 °C durante 5 min en radiación microondas. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de un filtro de jeringa y después se separó por una HPLC preparativa de fase inversa usando una columna YMC-Pack ODS 100x30 mm ID (sistema MeOH/H<sub>2</sub>O/TFA). Las fracciones puras se concentraron al vacío. El producto se suspendió después en 5 ml de agua, se congeló y se liofilizó para dar 580 mg de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6{2,2,2-trifluoro-1-[5-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 2,40 (s, 3H), 3,29-3,46 (m, 2H), 4,38 (q, 1H), 6,45 (d, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,24 (m, 1H), 7,53-7,70 (m, 4H), 7,82 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,97 (d, 2H).

**6.26. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6{2,2,2-trifluoro-1-[4-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

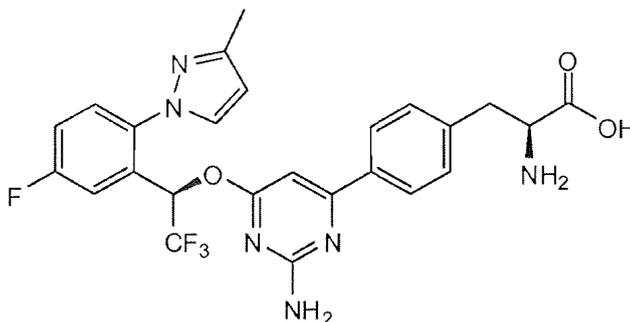
30 4-(2-Oxo-pirrolidin-1-il)-benzaldehído (500 mg, 2,64 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió trifluorometil trimetil silano (375 mg, 2,64 mmol). Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M, 0,1 ml) gota a gota y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 h y se agitó además durante toda la noche a temperatura ambiente. Después de completarse la reacción, se añadió HCl 3 N (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró. Se añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo por EtOAc (2x20 ml) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> (20 ml), salmuera (20 ml) y se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar 590 mg de producto deseado, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento de 86 %).

40 Una solución de 4,6-dicloro-pirimidin-2-ilamina (700 mg, 2,69 mmol), NaH (194 mg, 8,07 mmol, 60 %) y 1-(4-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)-fenil)-pirrolidin-2-ona (411 mg, 2,69 mmol) en THF seco (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de completarse la reacción, el THF se retiró a presión reducida. Se añadió agua (10 ml) mientras la mezcla se enfrió a 0 °C. La mezcla se extrajo después con diclorometano (2x40 ml). La solución orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La retirada del disolvente dio 498 mg de producto deseado con un 92 % de pureza, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento de 498 mg, 48 %).

45

Un vial de proceso Emrys (20 ml) para microondas se cargó con 1-(4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-iloxi)-2,2,2-trifluoro-etil)-fenil-pirrolidin-2-ona (200 mg, 0,51 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (108 mg, 0,51 mmol) y 5 ml de acetonitrilo. Se añadieron 5 ml de carbonato sódico acuoso (1 M) a la solución anterior seguido de un 5 por ciento en moles de dicloro-bis-(trifenilfosfina)-paladio (II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 160 °C durante 7 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 4 ml de metanol y se purificó con LC prep. para dar 153 mg de producto (rendimiento del 58 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,1 (m, 2H), 2,5 (t, 2H), 3,05-3,4(m, 2H), 3,85 (t, 2H), 4,2 (m, 1H), 6,6(m, 1H), 6,75(s, 1H), 7,3(d, 2H), 7,5 (d, 2H), 7,6 (d, 2H), 7,9 (d, 2H).

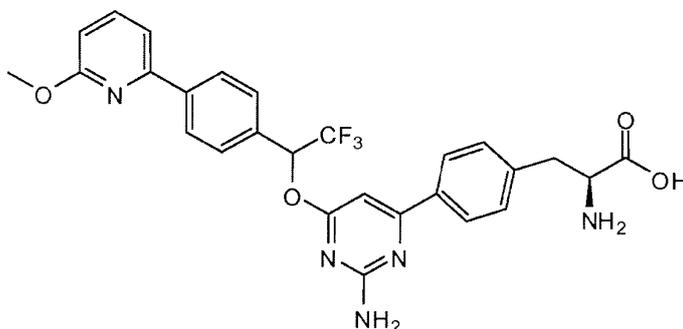
10 **6.27. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{(R)-2,2,2-trifluoro-1-[5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**



15 R-1-(2-Bromo-5-fluoro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (4,0 g, 14,65 mmol), 3-metil pirazol (1,56 g, 19,04 mmol), CuI (0,557 g, 2,93 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,25 g, 30,76 mmol), (1R,2R)-N,N'-dimetil-ciclohexano-1,2-diamina (0,416 g, 2,93 mmol) y tolueno (15 ml) se tomaron en un tubo sellado de 50 ml y la mezcla resultante se calentó a 130 °C (temperatura de baño de aceite) durante 2 días. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con H<sub>2</sub>O (4 x 30 ml), salmuera y se secó sobre sulfato sódico. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna ISCO usando acetato de etilo al 5-10 % en hexano como disolvente para dar 1,75 g de R-2,2,2-trifluoro-1-[5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (Rendimiento: 44 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,35(s, 3H), 5,0(m, 1H), 6,3(s, 1H), 7,1(m, 1H), 7,20(s, 1H), 7,35(d, 1H), 7,50(s, 1H).

25 Una solución de 4,6-dicloro-pirimidin-2-ilamina (938 mg, 5,72 mmol), NaH (188 mg, 1,5 eq. 8,17 mmol, 60 %) y R-2,2,2-trifluoro-1-[5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-etanol (1,5 g, 1 eq. 5,45 mmol) en THF seco (10 ml) se agitó a temperatura ambiente a 50 °C durante toda la noche. Después de completarse la reacción, el THF se retiró a presión reducida. Se añadió agua (10 ml) mientras para inactivar la reacción. La mezcla se extrajo después con diclorometano (2x40 ml). La solución orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La retirada del disolvente dio el producto deseado con un 92 % de pureza, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento: 85 %).

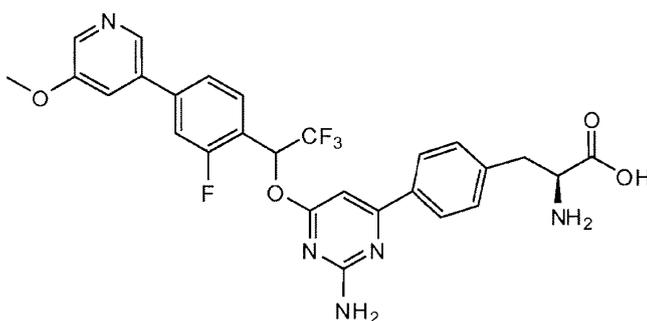
35 Un vial de proceso Emrys (20 ml) para microondas se cargó con cloro-6-R-2,2,2-trifluoro-1-(5-fluoro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil)-etoxi-pirimidin-2-ilamina (2,18 g, 5,45 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (1,13 g, 5,45 mmol), se añadió carbonato sódico (1 M 10,90 ml, 2 eq.) a la solución anterior seguido de un 5 por ciento en moles de diclorobis (trifenilfosfina)-paladio (II) (191 mg, 0,27 mmol) y 5 ml de acetonitrilo y 5 ml de H<sub>2</sub>O. El recipiente de reacción se selló y se calentó a 160 °C durante 10 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en H<sub>2</sub>O (10 ml) y se extrajo con éter. La capa etérea se descartó. Después la mayoría del agua en la fase acuosa se retiró al vacío seguido de la adición de 10 ml de metanol. El producto bruto se purificó con HPLC prep. para dar 1,163 g de producto (rendimiento del 75 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 2,4 (s, 3H), 3,35 (m, 1H), 3,5 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 6,4 (s, 1H), 7,0 (s, 1H), 7,1 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,55 (m, 4H), 7,85 (s, 1H), 8,0 (d, 2H).

**6.28. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-(6-metoxi-piridin-2-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

5 Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 4-(6-metoxi-piridin-2-il)-benzaldehído (213 mg, 1 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (0,2 ml, 1,2 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 12 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,25 g de 1-[4-(6-metoxi-piridin-2-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etanol que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación. Rendimiento: 90 %.

10 Se añadió Cs<sub>2</sub>cO<sub>3</sub> (375 mg, 1 mmol) a una solución de 1-[4-(6-metoxi-piridin-2-il)-fenil]-2,2,2-trifluoroetanol (67 mg, 0,2 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano anhidro. La mezcla se agitó durante 5 min, después se añadió ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (78 mg, 0,2 mmol) y la mezcla se calentó a 110 °C durante toda la noche. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 112 mg de ácido (S)-3-[4-(2-Amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-(6-metoxi-piridin-2-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (rendimiento: 88 %).

15 El producto anterior (112 mg) se añadió en 5 ml de una solución de TFA/DCM al 30 %. Tras completarse la reacción, el disolvente se evaporó para dar un producto bruto, que se purificó por HPLC preparativa para dar 5 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[4-(6-metoxi-piridin-2-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,18 (d, J=8,4Hz, 2 H), 7,94 (d, J=8,4Hz, 2 H), 7,74 (m, 3 H), 7,60 (d, J=8,4Hz, 2 H), 7,52 (d, J=7,2Hz, 1 H), 7,08 (s, 1 H), 6,86 (m, 1H), 6,82 (d, J=8,1Hz 1H), 4,37 (t, 1 H), 4,03(s, 3 H), 3,5 (m, 2 H).

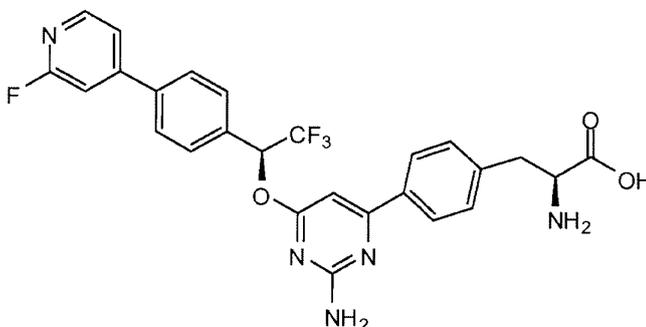
**6.29. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-fluoro-4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

30 Se añadió TBAF (0,1 ml) a una solución de 4-bromo-2-fluoro-benzaldehído (2,03 g, 10 mmol) y TMSCF<sub>3</sub> (20 ml, 12 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla formada se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 12 ml de HCl 3 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 2,4 g de 1-(4-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2,2-trifluoroetanol (rendimiento: 90 %).

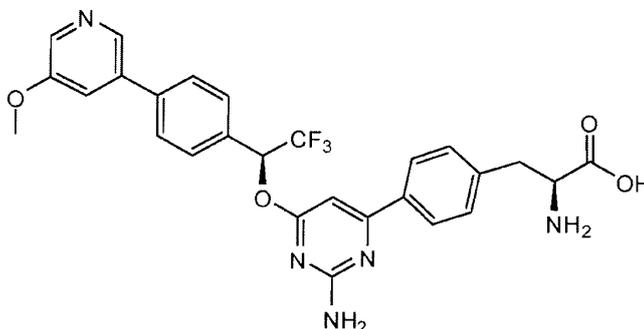
35 Se añadió Cs<sub>2</sub>cO<sub>3</sub> (8,45 g, 26 mmol) a una solución de 1-(4-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (1,4 g, 5,2 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano anhidro, la mezcla se agitó durante 5 minutos, después se añadió ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (2,0 g, 5 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 110 °C durante toda la noche. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 2,6 g de ácido (S)-3-[4-{2-amino-6-[1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoro-etoxi]-pirimidin-4-il}fenil]2terc-butoxicarbonilamino-propiónico (rendimiento: 82 %).

- Un vial de microondas (2 ml) se cargó con ácido (S)-3-(4-{2-amino-6-[1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoro-etoxi]-pirimidin-4-il}fenil)-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (130 mg, 0,2 mmol), 3-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-piridina (70 mg, 0,3 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 14 mg (5 % en moles) de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y se purificó con HPLC prep. para dar 51 mg de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-fluoro-4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico.
- El producto anterior (51 mg) se disolvió en 5 ml de una solución de TFA/DCM al 30 %. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por HPLC preparativa para dar 17 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{2,2,2-trifluoro-1-[2-fluoro-4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,73 (s, 1 H), 8,56 (s, 1 H), 8,25 (s, 1 H), 7,94 (d, J=8,2Hz, 2 H), 7,77(m, 3H), 7,55 (d, J=8,4Hz, 2 H), 7,16 (m, 1H), 7,00(s, 1H), 4,35 (t, 1 H), 4,09(s, 3 H), 3,4 (m, 2 H).

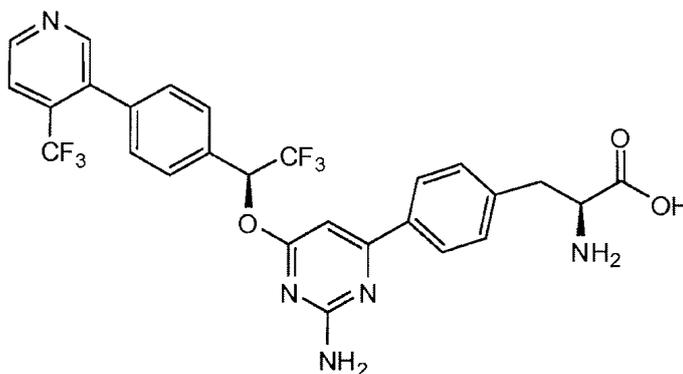
**6.30. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-{(S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(2-fluoro-piridin-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**



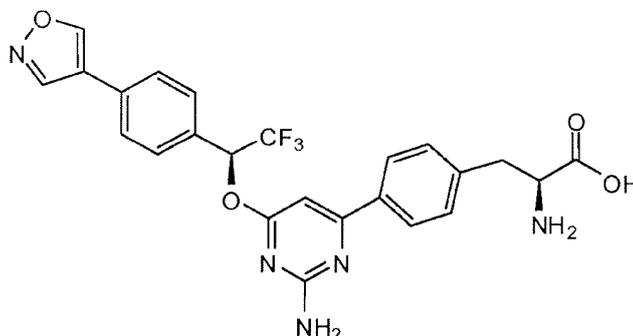
- Se añadió Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (16,25 g, 50 mmol) a la solución de (S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etanol (2,55 g, 11,0 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano anhidro y la mezcla se agitó durante 5 minutos, después de lo que se añadió ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-cloro-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (3,92 g, 10 mmol). La mezcla resultante se calentó a 110 °C durante toda la noche. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 5,2 g de ácido (S)-3-(4-{2-amino-6-[(S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etoxi]-pirimidin-4-il}fenil)-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (rendimiento: 82 %).
- Un vial de microondas (2 ml) se cargó con ácido (S)-3-(4-{2-amino-6-[(S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etoxi]-pirimidin-4-il}fenil)-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (139 mg, 0,23 mmol), ácido 2-fluoropiridin-4-borónico (40 mg, 0,27 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla, se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 14 mg (5 % en moles) de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y se purificó con HPLC prep. para dar 51 mg de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-{(S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(2-fluoro-piridin-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico.
- El producto anterior (70 mg) se disolvió en 5 ml de TFA al 30 % en DCM. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante toda la noche. La retirada del disolvente dio producto bruto que se purificó por HPLC preparativa para dar 52 mg de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{(S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(2-fluoro-piridin-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,17 (d, J=5,7Hz, 1 H), 7,85 (d, J=8,4Hz, 2 H), 7,77(d, J=6,9Hz, 2H), 7,67(d, J=8,2Hz, 2H), 7,53 (m, 1 H), 7,38 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,30(s, 1H), 6,76 (m, 2H), 4,21 (t, 1 H), 3,2 (m, 2 H).

**6.31. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

- 5 Un vial de microondas (2 ml) se cargó con ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-((S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (139 mg, 0,23 mmol), 3-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-piridina (69 mg, 0,27 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla, se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 14 mg (de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II)). El recipiente de
- 10 reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y se purificó con HPLC prep. para dar 60 mg de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc butoxicarbonilamino-propiónico.
- 15 El producto anterior (60 mg) se disolvió en 5 ml de TFA al 30 % en DCM. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La retirada del disolvente dio un producto bruto que se purificó por HPLC preparativa para dar 48 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,54 (d, J=1,5Hz, 1 H), 8,37 (d, J=2,7Hz, 1 H), 8,03 (dd, J=2,7Hz, 1,5Hz, 1H), 7,84 (d, J=8,2Hz, 2 H), 7,78(d, J=8,4Hz, 2H), 7,70(d, J=8,4Hz, 2H), 7,41 (d, J=8,4Hz, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,75 (m, 1H), 4,22 (t, 1 H), 3,95 (t, 3 H), 3,25 (m, 2 H).
- 20

**6.32. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4-trifluorometil-piridin-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**

- 25 Un vial de microondas (2 ml) se cargó con ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-((S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (139 mg, 0,23 mmol), ácido 4-trifluorometilpiridin-3-borónico (61 mg, 0,3 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 14 mg (de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II)). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y se purificó con HPLC preparativa para dar 20 mg de ácido (S)-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4-trifluorometil-piridin-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-2-terc butoxicarbonilamino-propiónico.
- 30
- 35 El producto anterior (20 mg) se disolvió en 5 ml de TFA al 30 % en DCM. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante toda la noche. La retirada del disolvente dio un producto bruto que se purificó por HPLC preparativa para dar 10 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-((S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4-trifluorometil-piridin-3-il)-fenil]-etoxi)-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,72 (d, J=5,1Hz, 1 H), 8,55 (s, 1 H), 7,87 (d, J=8,2, 2H), 7,72 (d, J=5,0Hz, 1 H), 7,63(d, J=8,2Hz, 2H), 7,36(m, 4H), 6,81 (m, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,20 (t, 1 H), 3,22 (m, 2 H).
- 40

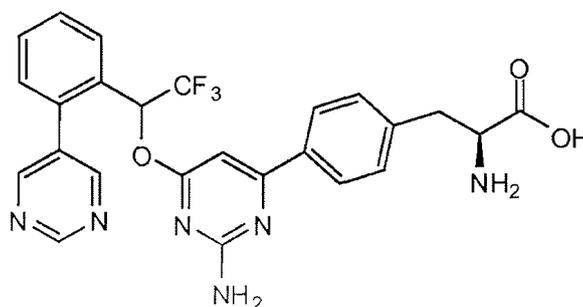
**6.33. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[(S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-isoxazol-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**

5 Un vial de microondas (2 ml) se cargó con ácido (S)-3-(4-{2-amino-6-[(S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (139 mg, 0,23 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-isoxazol (57,5 mg, 0,3 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 14 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El

10 recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y se purificó por HPLC preparativa para dar 20 mg de ácido (S)-3-(4-{2-amino-6-[(S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-isoxazol-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-2-terc-butoxicarbonilamino propiónico.

15 El producto anterior (20 mg) se disolvió en 5 ml de TFA al 30 % en DCM. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante toda la noche. La retirada del disolvente dio un producto bruto, que se purificó por HPLC preparativa para dar 10 mg de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[(S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-isoxazol-4-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 9,03 (s, 1H), 8,77(s, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,63 (d, J=8,2, 1H), 7,56 (d, J=8,4Hz, 1 H), 7,50(m, 1H), 7,37(m, 3H), 6,70(m, 2H), 4,20 (t, 1 H), 3,22 (m, 2 H).

20

**6.34. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**

25 Un vial de microondas (20 ml) se cargó con ácido 2-formilfenilborónico (290 mg, 2,0 mmol), 5-bromo-pirimidina (316 mg, 2,0 mmol) y 8 ml de acetonitrilo. A esta mezcla se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 100 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se extrajo con etilacetato. La capa orgánica se evaporó para proporcionar un material bruto, que se purificó por ISCO para dar 220 mg de 2-pirimidin-5-il-benzaldeído.

30

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 2-pirimidin-5-il-benzaldehído (184 mg, 1 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (TMSCF<sub>3</sub>, 0,2 ml, 1,2 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató con 3 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,21 g de 2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etanol (rendimiento: 84 %), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

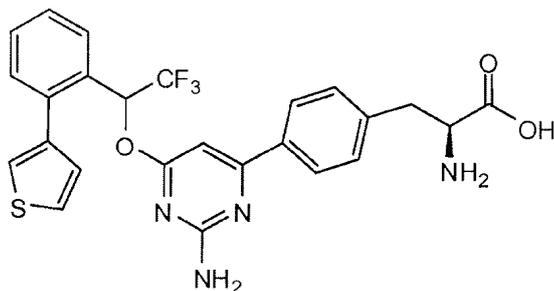
35

40 Se añadió Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (375 mg, 1,0 mmol) a una solución de 2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etanol (72 mg, 0,28 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano anhidro. La mezcla se agitó durante 20 min, se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (36,7 mg, 0,22 mmol) y después la mezcla se calentó a 110 °C hasta que se completó la reacción. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 76 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-2-ilamina bruta (rendimiento: 92 %).

45

Un vial de microondas (2 ml) se cargó con el intermedio bruto anterior (38 mg, 0,1 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (31 mg, 0,15 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 4 mg, 5 % en moles de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC preparativa para dar 10 mg de ácido (S)-2-Amino-3-{4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil}-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 9,21 (s, 1 H), 8,87 (s, 2 H), 7,86 (d, J=8,4, 2H), 7,75 (m, 1 H), 7,53(m, 2H), 7,37(d, J=8,2, 1H), 7,33 (m, 1H), 6,72(s, 1H), 6,58 (m, 1H), 4,20 (t, 1 H), 3,22 (m, 2 H).

10 **6.35. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-tiofen-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**



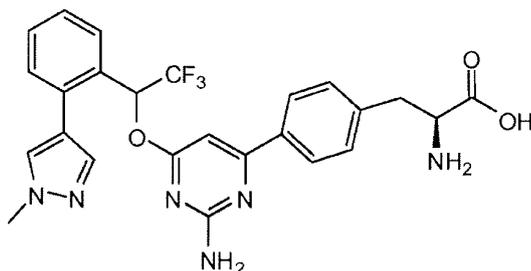
15 Un vial de microondas (20 ml) se cargó con ácido 2-formilfenilborónico (290 mg, 2,0 mmol), 3-bromo-tiofeno (326 mg, 2,0 mmol) y 8 ml de acetonitrilo. A esta mezcla se añadieron 4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 50 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se extrajo con etilacetato. La capa orgánica se evaporó para proporcionar un material bruto, que se purificó por ISCO para dar 211 mg de 2-tiofen-3-il-benzaldeído.

25 Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 2-tiofen-3-il-benzaldeído (100 mg, 0,53 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (0,1 ml, 0,64 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se trató después con 3 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,12 g de 2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etanol, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación (rendimiento: 89 %).

30 Se añadió Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (375 mg, 1,0 mmol) a una solución de 2,2,2-trifluoro-1-(2-tiofen-3-il-fenil)-etanol (72 mg, 0,28 mmol) en 10 ml de THF anhidro y la mezcla se agitó durante 20 min. Se añadió después 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (36,7 mg, 0,22 mmol) y la mezcla se calentó a 110 °C hasta que se completó la reacción. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 67 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-pirimidin-5-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-2-ilamina (rendimiento: 78 %).

35 Un vial de microondas (2 ml) se cargó con el intermedio bruto anterior (40 mg, 0,1 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (31 mg, 0,15 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 5 % en moles de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC preparativa para dar 10 mg de ácido (S)-2-amino-3-(4-{2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-tiofen-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 7,84 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,66 (d, J=7,6 Hz, 1 H), 7,53(m, 1H), 7,40(m, 5H), 7,30 (m, 1H), 7,17 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,82(s, 1H), 4,23 (t, 1 H), 3,25 (m, 2 H).

45 **6.36. Síntesis de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico**



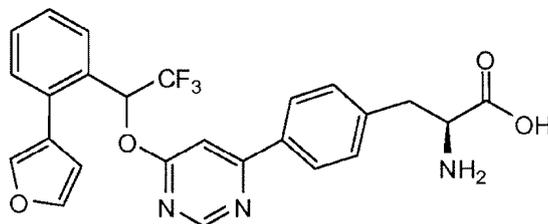
Un vial de microondas (20 ml) se cargó con ácido 2-formilfenilborónico (208 mg, 1,0 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (222 mg, 1,2 mmol) y 8 ml de acetonitrilo. A esta mezcla se añadieron 2,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 50 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se extrajo con etilacetato. La capa orgánica se evaporó para proporcionar un material bruto que se purificó por ISCO para dar 181 mg de 2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-benzaldehído (rendimiento del 96 %).

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-benzaldehído (100 mg, 0,53 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (0,12 ml, 0,6 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató después con 3 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,12 g de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il-fenil)-etanol, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación (rendimiento: 89 %).

Se añadió Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (325 mg, 1,0 mmol) a una solución de 2,2,2-trifluoro-1-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il-fenil)-etanol (60 mg, 0,2 mmol) en 10 ml de THF anhidro y la mezcla se agitó durante 20 min. Se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (36,7 mg, 0,22 mmol) y después la mezcla se calentó a 110 °C hasta que se completó la reacción. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 67 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-2-ilamina (rendimiento: 92 %).

Un vial de microondas (2 ml) se cargó con el intermedio bruto anterior (38 mg, 0,1 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (31 mg, 0,15 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 5 % en moles de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC preparativa para dar 5,6 mg de ácido (S)-2-Amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-[2-(1-metil-1H-Pirazol-4-il)-fenil]-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico.

### 6.37. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico



Un vial de microondas (20 ml) se cargó con ácido 2-formilfenilborónico (298 mg, 2,0 mmol), 3-bromo-furano (350 mg, 2,4 mmol) y 8 ml de acetonitrilo. A esta mezcla se añadieron 4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 100 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se extrajo con etilacetato. La capa orgánica se evaporó para proporcionar un material bruto que se purificó por ISCO para dar 110 mg de 2-furan-3-il-benzaldehído (rendimiento del 30 %).

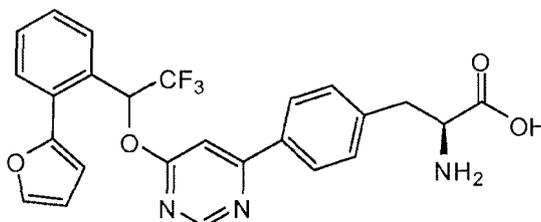
Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 2-furan-3-il-benzaldehído (110 mg, 0,64 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (109 mg, 0,78 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató después con 3 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,130 g de 2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-3-il-fenil)-etanol, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación (rendimiento: 90 %).

Se añadió NaH al sesenta por ciento (12 mg, 0,3 mmol) a una solución de 2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-3-il-fenil)-etanol (54 mg, 0,2 mmol) en 10 ml de THF anhidro. La mezcla se agitó durante 20 min, después de lo que se añadió 2-amino-4,6-dicloro-pirimidina (30 mg, 0,2 mmol). La mezcla se calentó después a 70 °C hasta que se completó la reacción. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua para inactivar la reacción y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 67 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidina (rendimiento: 94 %).

Un vial de microondas (2 ml) se cargó con el material bruto anterior (38 mg, 0,1 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (31 mg, 0,15 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,7 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,3 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 5 % en moles de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla se evaporó a

sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC preparativa para dar 6 mg de ácido (S)-2-amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-3-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,82 (s, 1 H), 8,13 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,73 (m, 2H), 7,46 (m, 6H), 6,82 (m, 1 H), 6,54(s, 1H), 4,20 (t, 1 H), 3,22 (m, 2 H).

5 **6.38. Síntesis de ácido (S)-2-amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-2-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico**



10 Un vial de microondas (20 ml) se cargó con ácido 2-formilfenilborónico (298 mg, 2,0 mmol), 2-bromo-furano (350 mg, 2,4 mmol) y 8 ml de acetonitrilo. A esta mezcla se añadieron 4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 100 mg de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se extrajo con etilacetato. La capa orgánica se evaporó para proporcionar un material bruto que se purificó por ISCO para dar 123 mg de 2-furan-2-il-benzaldehído (rendimiento del 34 %).

15 Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,1 ml de 1 M en THF) a una solución de 2-furan-2-il-benzaldehído (123 mg, 0,71 mmol) y trifluorometil trimetilsilano (120 mg, 0,86 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató después con 3 ml de HCl 1 M y se agitó durante toda la noche. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. El disolvente orgánico se evaporó para dar 0,150 g de 2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-2-il-fenil)-etanol, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación (rendimiento: 90 %).

20 Se añadió NaH al sesenta por ciento (12 mg, 0,3 mmol) a una solución de 2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-2-il-fenil)-etanol (55 mg, 0,2 mmol) en 10 ml de THF anhidro. La mezcla se agitó durante 20 min, después de lo que se añadió 4,6-dicloro-pirimidina (29 mg, 0,2 mmol). La mezcla se calentó después a 110 °C hasta que se completó la reacción. Después de enfriar, se añadieron 5 ml de agua y se usó acetato de etilo (20 ml) para extraer el producto. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró por rotavapor para dar 60 mg de 4-cloro-6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-2-il-fenil)-etoxi]-pirimidina (rendimiento del 80 %).

25 Un vial de microondas (2 ml) se cargó con el material bruto anterior (60 mg, 0,2 mmol), 4-borono-L-fenilalanina (62 mg, 0,3 mmol) 1 ml de acetonitrilo y 0,6 ml de agua. A esta mezcla se añadieron 0,4 ml de carbonato sódico acuoso (1 M), seguido de 5 % en moles de diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 150 °C durante 5 minutos con irradiación microondas. Después de enfriar, la mezcla se evaporó a sequedad, el residuo se disolvió en 2,5 ml de metanol y después se purificó por HPLC preparativa para dar 6 mg de ácido (S)-2-amino-3-(4-{6-[2,2,2-trifluoro-1-(2-furan-2-il-fenil)-etoxi]-pirimidin-4-il}-fenil)-propiónico. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) 8,66 (s, 1 H), 8,11 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,77 (m, 2 H), 7,54 (m, 6H), 6,86 (d, J=3,3Hz, 1 H), 6,66(m, 1H), 4,20 (t, 1 H), 3,22 (m, 2 H).

30 **6.39. Compuestos adicionales**

35 Los compuestos adicionales preparados usando métodos conocidos en la técnica y/o descritos en el presente documento se listan a continuación:

Compuesto	CLEM (M+1)	Método de HPLC (Tiempo (min))
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-(piridin-3-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	510	A --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(2-metilpiridin-4-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	524	A --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(4-metiltofen-3-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	529	A --
ácido (2S)-3-(4-(6-(1-(2-(1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)-2-aminopirimidin-4-il)fenil)-2-aminopropanoico	499	A (2,86)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-(furan-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	499	A --

Compuesto	CLEM (M+1)	Método de HPLC (Tiempo (min))
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(piridin-3-iloxi)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	512	A (1,36)
ácido (2S)-3-(4-(6-(1-(2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)-2-aminopirimidin-4-il)fenil)-2-aminopropanoico	500	A (2,17)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(furan-3-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	499	A --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-(furan-2-il)-3-metoxifenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	529	A (3,32)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(5-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(furan-2-il)fenil)etoxi)pirazin-2-il)fenil)propanoico	484	E --
ácido (2S)-3-(4-(5-(1-(2-(1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-il)fenil)-2-aminopropanoico	484	E --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(1-(4,5-dimetoxi-2-(1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	559	A (2,86)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	513	A (2,30)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-(5-metiltiofen-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	529	A --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(1-(2-(5-(dimetilcarbamoil)furan-2-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	570	A --
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-(tiofen-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	533	A (1,61)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-(tiofen-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	518	A (1,65)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-(tiofen-3-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	518	A (3,76)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-fluoro-2-(4-metiltiofen-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	532	A (3,88)
ácido (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-2,2,2-trifluoro-1-(4-(6-fluoropindin-3-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	528	A (2,96)
ácido (2S)-3-(4-(6-(1-(4-(1H-imidazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)-2-aminopirimidin-4-il)fenil)-2-aminopropanoico	499	A (2,07)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-(tiofen-2-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	500	A (3,74)
ácido (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-2,2,2-trifluoro-1-(4-(pirimidin-5-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	511	A (2,67)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(6-(1-(2-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-4-fluorofenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	531	A (1,55)
ácido (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-2,2,2-trifluoro-1-(4-(2-metilpiridin-4-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	524	A (2,28)
ácido (2S)-3-(4-(6-(1-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)-2-aminopropanoico	485	A (1,24)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(4-(piperidin-1-il)metil)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	530	B (3,00)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(2-fluoro-4-(2-metilpiridin-4-il)fenil)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	542	A (2,42)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(1-(4-(6-cloropiridazin-3-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	545	A (3,33)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(1-(4-(4-tert-butiltiazol-2-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	572	A (1,82)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(2,2,2-trifluoro-1-(3'-metoxi-3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)bifenil-4-il)etoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	619	A (3,54)
ácido (2S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-(1-(5-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico	547	A (3,20)

#### 6.40. Ensayos de inhibición *in vitro*

- 5 TPH1, TPH2, tirosina hidroxilasa (TH) y fenilalanina hidroxilasa (PH) humanas se generaron todas usando genes que tienen los siguientes números de acceso, respectivamente: X52836, AY098914, X05290 y U49897.

La secuencia codificante de longitud completa de la TPH1 humana se clonó en el vector de expresión bacteriano pET24 (Novagen, Madison, WI, EE.UU.). Una única colonia de células BL21(DE3) que portaba el vector de

expresión se inoculó en 50 ml de medio caldo L (LB)-kanamicina y se creció a 37 °C durante toda la noche con agitación. La mitad del cultivo (25 ml) se transfirió entonces a 3 l de medio que contenía un 1,5 % de extracto de levadura, un 2 % de Peptona Bacto, triptófano 0,1 mM, sulfato amónico ferroso 0,1 mM y tampón fosfato 50 mM (pH 7,0) y se creció a una  $DO_{600} = 6$  a 37 °C con oxígeno suplementado al 40 %, pH mantenido a 7,0 y glucosa añadida.

5 La expresión de TPH1 se indujo con D-lactosa al 15 % durante un periodo de 10 horas a 25 °C. Las células se giraron y se lavaron una vez con solución salina tamponada con fosfato (PBS).

TPH1 se purificó por cromatografía de afinidad basada en su unión a pterina. El sedimento celular se resuspendió en un tampón de lisis (100 ml/20 g) que contenía Tris-Cl 50 mM, pH 7.6, NaCl 0,5 M, Tween-20 al 0,1 %, EDTA 2 mM, DTT 5 mM, mezcla inhibidora de proteasa (Roche Applied Science, Indianapolis, IN, EE.UU.) y fluoruro de fenilmetansulfonilo (PMSF) 1 mM y las células se lisaron con un microfluidizador. El lisado se centrifugó y el sobrenadante se cargó en una columna de sefarosa 4B acoplada a pterina que se equilibró con un tampón que contenía Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 2 M, Tween-20 al 0,1 %, EDTA 0,5 mM y DTT 5 mM. La columna se lavó con 50 ml de este tampón y se eluyó TPH1 con un tampón que contenía  $\text{NaHCO}_3$  30 mM, pH 10,5, NaCl 0,5 M, Tween-20 al 0,1 %, EDTA 0,5 mM, DTT 2 mM y glicerol al 10 %. La enzima eluida se neutralizó inmediatamente con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  200 mM, pH 7,0, NaCl 0,5 M, DTT 20 mM, EDTA 0,5 mM y glicerol al 10 % y se almacenó a -80 °C.

La triptófano hidroxilasa tipo II (TPH2), la tirosina hidroxilasa (TH) y la fenilalanina hidroxilasa (PAH) humanas se expresaron y se purificaron esencialmente del mismo modo, excepto por que las células se suplementaron con tirosina para TH y fenilalanina para PAH durante el crecimiento.

Las actividades TPH1 y TPH2 se midieron en una mezcla de reacción que contenía ácido 4-morfolinpropansulfónico (MOPS) 50 mM, pH 7,0, triptófano 60  $\mu\text{M}$ , sulfato amónico 100 mM, sulfato amónico ferroso 100  $\mu\text{M}$ , tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) 0,5 mM, 6-metil tetrahidropterina 0,3 mM, catalasa 0,05 mg/ml y DTT 0,9 mM. Las reacciones se iniciaron añadiendo TPH1 a una concentración final de 7,5 nM. La velocidad inicial de las reacciones se determinó siguiendo el cambio de la fluorescencia a 360 nm (longitud de onda de excitación = 300 nm). La inhibición de TPH1 y TPH2 se determinó midiendo sus actividades en diversas concentraciones de compuestos y la potencia de un compuesto dado se calculó usando la ecuación:

$$v = b + \frac{v_0 - b}{1 + \left( \frac{[C]}{I_{c50}} \right)^D}$$

donde  $v$  es la velocidad inicial a una concentración  $C$  de un compuesto dado,  $v_0$  es la  $v$  cuando  $C = 0$ ,  $b$  es la señal de fondo,  $D$  es la pendiente de Hill que es aproximadamente igual a 1 e  $I_{c50}$  es la concentración del compuesto que inhibe la mitad de la actividad enzimática máxima.

Las actividades de TH y PAH humanas se determinaron midiendo la cantidad de  $^3\text{H}_2\text{O}$  generada usando L-[3,4- $^3\text{H}$ ]-tirosina y L-[4- $^3\text{H}$ ]-fenilalanina, respectivamente. La enzima (100 nM) se incubó en primer lugar con su sustrato a 0,1 nM durante aproximadamente 10 minutos y se añadió a una mezcla de reacción que contenía MOPS 50 mM, pH 7,2, sulfato amónico 100 mM, Tween-20 al 0,05 %, TCEP 1,5 mM, sulfato amónico ferroso 100  $\mu\text{M}$ , tirosina o fenilalanina 0,1 mM, 6-metil tetrahidropterina 0,2 mM, 0,05 mg/ml de catalasa y DTT 2 mM. Las reacciones se dejaron avanzar durante 10-15 minutos y se pararon mediante la adición de HCl 2 M. Las mezclas se filtraron después a través de carbón activado y la radiactividad en el filtrado se determinó por recuento de centelleos. Las actividades de los compuestos de TH y PAH se determinaron usando este ensayo y se calcularon de la misma manera que TPH1 y TPH2.

#### 6.41. Ensayos de inhibición basados en células

Se usaron dos tipos de líneas celulares para la exploración: RBL2H3 es una línea celular de mastocitoma de rata, que contiene TPH1 y produce 5-hidroxitriptamina (5HT) espontáneamente; BON es una línea celular de carcinoma humano, que contiene TPH1 y produce 5-hidroxitriptófano (5HTP). Los EBC se realizaron en un formato de placa de 96 pocillos. La fase móvil usada en la HPLC contenía un 97 % de acetato sódico 100 mM, pH 3,5 y acetonitrilo al 3 %. Se usó una columna Waters C18 (4,6 x 50 mm) con HPLC Waters (modelo 2795). Se usó un fluorómetro multi-canal (modelo 2475) para monitorizar el flujo a través ajustando a 280 nm como la longitud de onda de excitación y 360 nm como la longitud de onda de emisión.

**EBC RBL:** Las células se hicieron crecer en medio completo (que contenía suero bovino al 5 %) durante 3-4 horas para permitir a las células fijarse a los pocillos de las placas (7K células/pocillo). Los compuestos se añadieron después a cada pocillo en el intervalo de concentración de 0,016  $\mu\text{M}$  a 11,36  $\mu\text{M}$ . Los controles fueron células en medio completo sin ningún compuesto presente. Las células se recolectaron después de 3 días de incubación a 37 °C. Las células confluían al >95 % sin compuesto presente. Los medios se retiraron de las placas y las células se lisaron con volumen igual de NaOH 0,1 N. Una gran porción del lisado celular se trató mezclando con igual volumen

de TCA 1 M y después se filtró a través de fibra de vidrio. Los filtrados se cargaron en HPLC de fase inversa para analizar las concentraciones de 5HT. También se tomó una pequeña porción del lisado celular para medir la concentración proteica de las células que refleja la citotoxicidad de los compuestos a la concentración usada. La concentración proteica se midió usando un método BCA.

5 El promedio del nivel de 5HT en las células sin compuesto tratado se usó como el valor máximo en la derivación  $IC_{50}$  de acuerdo con la ecuación proporcionada anteriormente. El valor mínimo de 5HT se establece bien a 0 o bien a partir de las células que se trataron con la concentración más alta de compuesto si un compuesto no es citotóxico a esa concentración.

10 EBC BON: Las células se hicieron crecer en volumen igual de DMEM y se añadieron F12K con suero bovino al 5 % durante 3-4 horas (20K células/pocillo) y compuesto a un intervalo de concentración de 0,07  $\mu$ M a 50  $\mu$ M. Las células se incubaron a 37 °C durante toda la noche. Se tomaron después cincuenta  $\mu$ M del sobrenadante del cultivo para la medición de 5HTP. El sobrenadante se mezcló con igual volumen de TCA 1 M, después se filtró a través de fibra de vidrio. El filtrado se cargó en HPLC de fase inversa para la medición de la concentración de 5HTP. La viabilidad celular se midió tratando las células restantes con el Ensayo de Viabilidad Celular Luminiscente Promega Celltiter-Glo. La potencia del compuesto se calculó después de la misma manera que en el ECB RBL.

#### 20 **6.42. Efectos *in vivo***

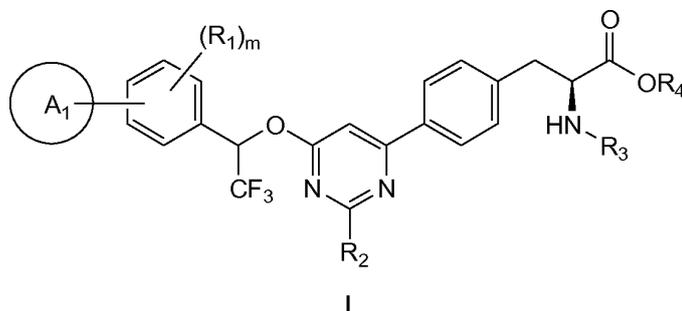
Los efectos *in vivo* de compuesto se determinaron formulándolos para proporcionar soluciones, que después se dosificaron oralmente. En general, se dosificaron ratones albinos C57 machos de 14 semanas una vez al día por alimentación forzada oral a 5-10 ml/kg durante cuatro días consecutivos. Cinco horas después de la última dosis, los animales se sacrificaron rápidamente. Cada animal se anestesió usando isoflurano, la sangre se extrajo por el método del palillo cardíaco usando jeringas de 1 ml y una aguja 25 5/8, se colocaron 250  $\mu$ l de sangre en tubos Capiject que contienen EDTA que se mantienen en rotación suave. Después se decapitó al animal, se tomó el cerebro entero y se congeló instantáneamente, se limpiaron el yeyuno, el íleon y el colon de grasa y el contenido de la luz, se congelaron instantáneamente. Se extrajo 5-HT de la sangre o de los tejidos y se midió por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) equipada con un detector de fluorescencia en línea. Las muestras de sangre se tomaron para el análisis de exposición. Todos los estudios animales se llevaron a cabo con protocolos aprobados por The Institutional Animal Care and Use Committee.

La Figura 1 muestra el efecto dependiente de la dosis de un compuesto de la invención en los niveles de 5-HT en ratones.

35

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:

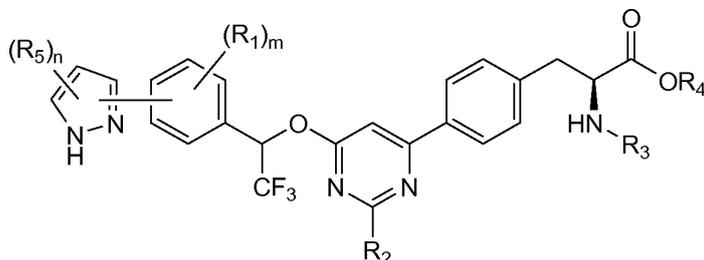


5

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como un medicamento en el tratamiento, la prevención o la gestión de hipertensión pulmonar, en el que:

- 10 A<sub>1</sub> es heterociclo opcionalmente sustituido;  
 cada R<sub>1</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub>; o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 R<sub>2</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 R<sub>3</sub> es hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, C(O)OR<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 R<sub>4</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 15 cada R<sub>A</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 cada R<sub>B</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 cada R<sub>C</sub> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; y  
 m es 1-4.

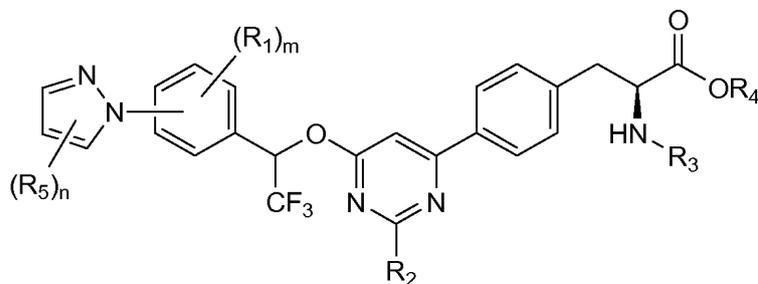
20 2. El uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:



en la que:

- 25 cada R<sub>5</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>; y  
 n es 1-3.

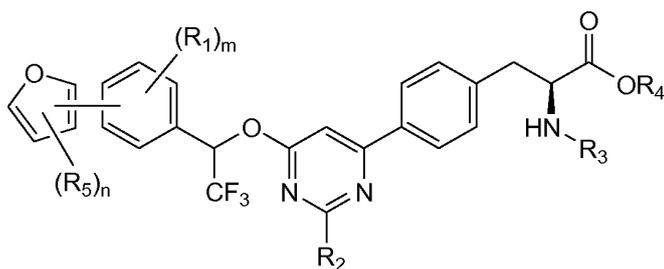
30 3. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:



en la que:

- 35 cada R<sub>5</sub> es independientemente halógeno, hidrógeno, C(O)R<sub>A</sub>, OR<sub>A</sub>, NR<sub>B</sub>R<sub>C</sub>, S(O<sub>2</sub>)R<sub>A</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub>; y  
 n es 1-3.

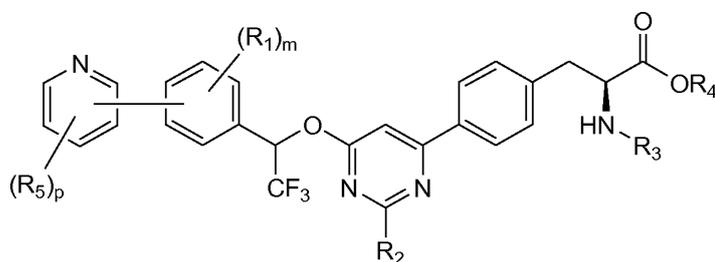
4. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:



en la que:

5 cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $n$  es 1-3.

5. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:

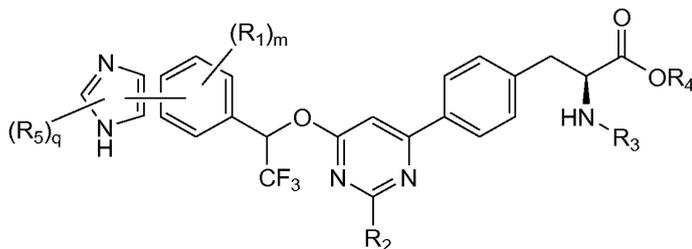


10

en la que:

15 cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $p$  es 1-4.

6. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:

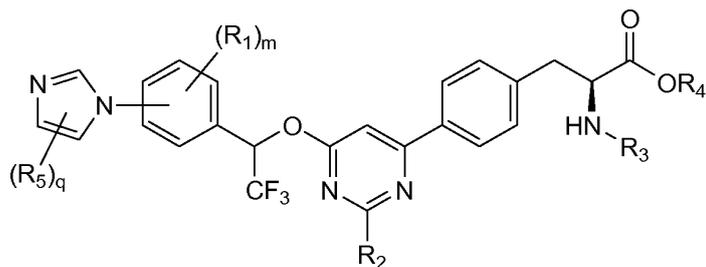


20

en la que:

25 cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y  $q$  es 1-2.

7. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:

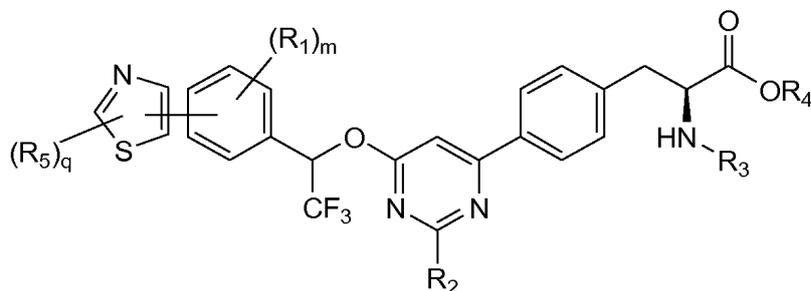


30 en la que:

cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y

q es 1-2.

8. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula:



5

en la que:

10 cada  $R_5$  es independientemente halógeno, hidrógeno,  $C(O)R_A$ ,  $OR_A$ ,  $NR_B R_C$ ,  $S(O_2)R_A$  o alquilo  $C_{1-4}$ ; y q es 1-2.

9. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que  $R_1$  es hidrógeno o halógeno.

15 10. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que  $R_2$  es hidrógeno o amino.

20 11. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que  $R_3$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ .

12. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que  $R_4$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ .

25 13. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-8, en el que  $R_5$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ .

30 14. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoico o etil éster del ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico.

35 15. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico o etil éster del ácido (S)-2-amino-3-[4-(2-amino-6-{R-1-[4-cloro-2-(3-metil-pirazol-1-il)-fenil]-2,2,2-trifluoro-etoxi}-pirimidin-4-il)-fenil]-propiónico.

EFFECTO DEL COMPUESTO EN 5-HT EN EL YEYUNO DE RATÓN

