

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 426**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04	(2006.01)	A61K 31/4725	(2006.01)
C07D 401/14	(2006.01)	A61K 31/497	(2006.01)
C07D 403/04	(2006.01)	A61K 31/5513	(2006.01)
C07D 405/14	(2006.01)	A61K 31/553	(2006.01)
C07D 409/14	(2006.01)	A61P 29/00	(2006.01)
C07D 413/04	(2006.01)		
C07D 417/14	(2006.01)		
C07D 471/04	(2006.01)		
C07D 495/04	(2006.01)		
A61K 31/4418	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.03.2012 PCT/US2012/027376**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2012 WO12121992**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2012 E 12709439 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017 EP 2681206**

54 Título: **Inhibidores de cinasa MST1 y métodos para su uso**

30 Prioridad:

04.03.2011 US 201161449171 P

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

26.10.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**AUGERI, DAVID JOHN;
BAGDANOFF, JEFFREY THOMAS;
BAUGH, SIMON DAVID PETER;
CARLSEN, MARIANNE;
CARSON, KENNETH GORDON;
GILLERAN, JOHN ANTHONY;
HE, WEI;
ORAVECZ, TAMAS;
SALOJIN, KONSTANTIN y
SUNG, LEONARD**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 639 426 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

Inhibidores de cinasa MST1 y métodos para su uso

5 **1. Campo de la invención**

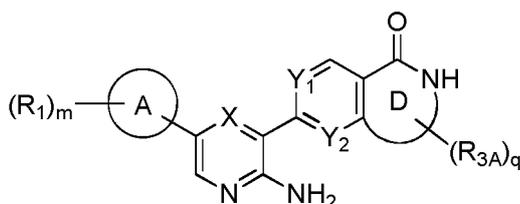
Esta invención se refiere a compuestos útiles como inhibidores de cinasa 1 de tipo Ste20 de mamífero (MST1), composiciones que los comprenden, y métodos para su uso.

10 **2. Antecedentes de la invención**

La cinasa 1 de tipo Ste20 de mamífero (MST1) es un componente de la ruta de señalización "Hippo", y "se ha visto implicada en la regulación del ciclo celular, la apoptosis y las respuestas celulares al estrés oxidativo". Choi, J., et al., Plos One 4(11):e8011, 1 (2009). Los ratones deficientes en MST1 presentaban una acumulación de linfocitos maduros en el timo y una disminución de linfocitos en la sangre y en los tejidos linfoides periféricos. Dong, Y., et al., J. Immunology 183(6):3865-3872. 3865(2009). Véase también, Katagiri, K., et al., Nat Immunol. (9):919-28 (2006); Ling, P., et al., Cell Signal. 20(7): 1237-47 (2008). MST1 también se conoce como serina/treonina cinasa 4 (STK4) y cinasa sensible al estrés 2 (KRS2).

20 **3. Sumario de la invención**

Esta invención se refiere a compuestos útiles para la inhibición de MST1. Una realización de la invención incluye compuestos de la fórmula:



25

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

- 30 A es arilo o heterociclo de 4-7 miembros;
 D es un heterociclo no aromático de 5-7 miembros;
 X es N o CH;
 cada uno de Y₁ e Y₂ es independientemente N o CH;
 cada R₁ es independientemente R_{1A}, -(R_{1B})_nSO_pN(R_{1C})₂, -(R_{1B})_nNR_{1C}SO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nC(O)N(R_{1C})₂, o -
 35 (R_{1B})_nNR_{1C}C(O)R_{1C}, o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de R_{1A};
 cada R_{1A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 cada R_{1B} es independientemente hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido con uno o más de amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 40 cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 cada R_{3A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 k es 0 o 1;
 m es 0-3;
 n es 0 o 1;
 45 p es 0-2; y
 q es 0-2.

Otra realización incluye una formulación que comprende un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Otra incluye un compuesto o formulación de la invención para su uso en el
 50 tratamiento, gestión o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio o autoinmune.

4. Breve descripción de las figuras

Ciertos aspectos de la invención pueden entenderse a partir de las figuras adjuntas, descritas a continuación:
 55

La figura 1 muestra la diferencia entre los ratones MST1^{-/-} (n = 13) y sus hermanos de camada de tipo silvestre (n-11) en un modelo de enfermedad de artritis inducida por colágeno (CIA).

La figura 2 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra profilácticamente (figura 2A) y terapéuticamente (figura 2B) a ratones en un modelo de enfermedad de

encefalomielitis experimental autoinmune (EAE).

La figura 3 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra terapéuticamente a ratas en un modelo de enfermedad de EAE.

5 La figura 4 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra terapéuticamente a ratones en un modelo de enfermedad de CIA. La figura 4A muestra la puntuación acumulada de artritis en el transcurso del experimento; la figura 4B muestra el cambio en el espesor del tobillo a lo largo del experimento.

10 La figura 5 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra terapéuticamente a ratas en un modelo de enfermedad de CIA. La figura 5A muestra la puntuación acumulada de artritis en el transcurso del experimento; la figura 5B muestra el cambio en el espesor del tobillo a lo largo del experimento.

La figura 6 muestra el efecto del tratamiento a corto plazo con un compuesto de la invención sobre enzimas hepáticas y respuesta a citocinas en ratones sometidos a un modelo de enfermedad de hepatitis inducido por concaavalina A (ConA).

15 La figura 7 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra terapéuticamente a ratas en un modelo de enfermedad de EAE. La figura 7A muestra la puntuación clínica en función del tiempo; la figura 7B muestra el desarrollo de la enfermedad en función de la dosis del compuesto (o vehículo).

20 La figura 8 muestra el efecto del tratamiento a corto plazo con un compuesto de la invención sobre enzimas hepáticas y respuesta a citocinas en ratones sometidos a un modelo de enfermedad de hepatitis inducido por ConA.

La figura 9 muestra el efecto de diferentes dosis de un compuesto de la invención cuando se administra terapéuticamente a ratones en un modelo de enfermedad de EAE. La figura 9A muestra la puntuación clínica en función del tiempo para los ratones a los que se administró el compuesto (y el vehículo) por vía subcutánea; La figura 9B muestra la puntuación clínica en función del tiempo para los ratones a los que se administró el compuesto (y el vehículo) por vía oral;

25 La figura 10 muestra el efecto de un compuesto de la invención en un modelo de CIA de ratón en función de la dosis y el método de administración. Las figuras 10A y 10B muestran el efecto del compuesto sobre las puntuaciones acumuladas y el cambio en el espesor del tobillo cuando el compuesto (y el control del vehículo) se administraban por vía subcutánea. Las figuras 10C y 10D muestran los resultados obtenidos cuando se administró por vía el compuesto (y el control del vehículo).

5. Descripción detallada de la invención

35 Esta invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que los ratones knockout MST1 son significativamente más resistentes a los modelos de enfermedades autoinmunes e inflamatorias animales que sus hermanos de camada de tipo silvestre. Este hallazgo motivó el descubrimiento de nuevos compuestos que inhiben MST1, los más preferidos de los cuales son eficaces en modelos de enfermedad animal y exhiben propiedades toxicológicas y farmacocinéticas deseables.

40

5.1. Definiciones

45 A menos que se indique otra cosa, las expresiones "compuestos de la invención" "compuestos de la presente divulgación", y similares, se refieren a los compuestos desvelados en el presente documento, particularmente compuestos de Fórmula I y sales de los mismos.

A menos que se indique otra cosa, el término "hidrocarbilo" se refiere a un resto alifático o alicíclico que tiene una estructura principal entera de carbono y que consiste en átomos de carbono y de hidrógeno. Los ejemplos de grupos hidrocarburo incluyen los que tienen 1-20, 1-12, 1-6, y 1-4 átomos de carbono (denominados como hidrocarbilo C₁₋₂₀, hidrocarbilo C₁₋₁₂, hidrocarbilo C₁₋₆, e hidrocarbilo C₁₋₄, respectivamente). Los ejemplos particulares incluyen alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, bencilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilalquilo, naftilo, fenilo, y feniletilo.

50 Los ejemplos de restos alquilo incluyen restos de cadena lineal o ramificada que tienen 1-20, 1-12, 1-6, 1-4 y 1-3 átomos de carbono (denominados como alquilo C₁₋₂₀, alquilo C₁₋₁₂, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₄ y alquilo C₁₋₃, respectivamente). Los ejemplos particulares 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.

60 Los ejemplos de restos alquenilo incluyen alquenilo C₂₋₂₀, C₂₋₁₂ y C₂₋₆ de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos particulares incluyen vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutilenilo, 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.

65 Los ejemplos de restos alquinilo incluyen alquinilo C₂₋₂₀, C₂₋₁₂ y C₂₋₆ de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos particulares incluyen etinilo y 2-propinilo (propargilo).

Los ejemplos de restos arilo incluyen antraceno, azuleno, fluoreno, indano, indenilo, naftilo, fenilo y fenantreno. Los ejemplos de restos cicloalquilo incluyen cicloalquilo C₃₋₁₂, C₃₋₇, C₄₋₆ y C₆. Los ejemplos particulares incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y adamantilo.

5 A menos que se indique otra cosa, el término "halo" incluye flúor, cloro, bromo, y yodo.

A menos que se indique otra cosa, el término "heterocarbilo" se refiere a un resto que tiene una estructura principal constituida por uno o más átomos de carbono y uno o más heteroátomos. Los heteroátomos particulares son nitrógeno, oxígeno y azufre. Un resto heterocarbilo puede considerarse como un resto hidrocarbilo en el que al menos un átomo de carbono, un grupo CH, CH₂, o CH₃ se reemplaza con uno o más heteroátomos y el número requerido de átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Los ejemplos de heterocarbilo incluyen restos heterocarbilo de 2-20, 2-12, 2-8, 2-6 y 2-4 miembros, en los que el intervalo numérico se refiere a la suma total de átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno, y/o azufre en el resto. Por lo tanto, la expresión "heterocarbilo de 2-12 miembros" se refiere a un resto heterocarbilo que tiene un total de 2-12 átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno, y/o azufre. Los restos heterocarbilo particulares incluyen heteroalquilo, heteroalqueno, y heteroalquino de cadena lineal o ramificada, así como heterociclo y heteroarilo.

Los ejemplos de restos heteroalquilo incluyen restos heteroalquilo de 2-8 miembros, 2-6 miembros y 2-4 miembros. Los ejemplos particulares incluyen alcoxilo, acilo (por ejemplo, formilo, acetilo, benzilo), alquilamino (por ejemplo, di-(alquil C₁₋₃)amino), arilamino, ariloxima, carbamatos, carbamidas, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilsulfanilo, arilsulfanilo, alquilsulfino, arilsulfino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilamino, y arilsulfonilamino.

A menos que se indique otra cosa, el término "heterociclo" se refiere a un resto heterocarbilo cíclico (monocíclico o policíclico) que puede ser aromático, parcialmente aromático o no aromático. Los heterociclos incluyen heteroarilos. Los ejemplos incluyen heterociclos de 4-10 miembros, 4-7 miembros, 6 miembros, y 5 miembros. Los ejemplos particulares incluyen benzo[1,3]dioxolilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo, cinnolinilo, furanilo, hidantoinilo, morfolinilo, oxetanilo, oxiranilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, tetrahydrofuranoilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo y valerolactamilo. Dado que el término "heterociclo" se refiere a un anillo, por sí solo no incluye restos tales como oxazolidinona e imidazolidinona: dichos restos se consideran heterociclos sustituidos, concretamente heterociclos sustituidos con oxo.

Los ejemplos de restos heteroarilo incluyen acridinilo, benzoimidazolilo, 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.

A menos que se indique otra cosa, el término "incluyen" tiene el mismo significado que "incluyen, pero sin limitación", y el término "incluye" tiene el mismo significado que "incluye, pero sin limitación". De forma similar, la expresión "tal como" tiene el mismo significado que el término "tal como, pero sin limitación".

A menos que se indique otra cosa, los términos "gestión" y "gestionar" incluyen prevenir la reaparición de la enfermedad o trastorno especificado en un paciente que ya ha sufrido la enfermedad o trastorno, y/o alargar el tiempo que un paciente que ha padecido la enfermedad o trastorno sigue en remisión. Los términos incluyen la modulación del umbral, el desarrollo y/o la duración de la enfermedad o trastorno, o el cambio de la forma en que un paciente responde a la enfermedad o trastorno.

A menos que se indique otra cosa, la expresión "inhibidor de MST1" se refiere a un compuesto que inhibe MST1 in vitro con una CI₅₀ de menos de 1 µm, 0,5 µm o 0,25 µm como se determina mediante el ensayo descrito en el presente documento.

A menos que se indique otra cosa, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases o ácidos inorgánicos y bases o ácidos orgánicos. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales metálicas hechas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc o sales orgánicas hechas de lisina, N,N'-dibenciletildiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos tales como ácidos acético, algínico, antranílico, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etenesulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, ácido tartárico, y ácido p-toluenosulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico, y metanosulfónicos. Los ejemplos de sales específicas incluyen, por tanto, sales clorhidrato y mesilato. Otros se conocen bien en la técnica. Véanse, *por ejemplo*, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990) y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1995).

A menos que se indique otra cosa, el término "sustituido", cuando se usa para describir una estructura o resto químico, se refiere a un derivado de esa estructura o resto en el que uno o más de sus átomos de hidrógeno están sustituidos con un átomo, un resto químico o funcional, tal como, pero sin limitación, 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)NH₂), amina (primaria, secundaria y terciaria, tales como alquilamino, arilamino, arilalquilamino), aroilo, arilo, ariloxi, azo, carbamoilo (-NHC(O)O-alquil- o -OC(O)NH-alquilo), carbamilo (*por ejemplo*, CONH₂, CONH-alquilo, CONH-arilo), carbonilo, carboxilo, ácido carboxílico, anhídrido del ácido carboxílico, cloruro de ácido carboxílico, ciano, éster, epóxido, éter (*por ejemplo*, metoxi, etoxi), guanidino, halo, haloalquilo (*por ejemplo*, -CCl₃, -CF₃, -C(CF₃)₃), heteroalquilo, hemiacetal, imina (primaria y secundaria), isocianato, isotiocianato, cetona, nitrilo, nitro, oxígeno (*es decir*, para proporcionar un grupo oxo), fosfodiéster, sulfuro, sulfonamido (*por ejemplo*, SO₂NH₂), sulfona, sulfonilo (incluyendo alquilsulfonilo, arilsulfonilo y arilalquilsulfonilo), sulfóxido, tiol (*por ejemplo*, sulfhidrilo, tioéter) y urea (-NHCONH-alquil-). En una realización particular, el término sustituido se refiere a un derivado de esa estructura o resto en el que uno o más de sus átomos de hidrógeno están sustituidos con alcohol, alcoxi, alquilo (*por ejemplo*, metilo, etilo, propilo, t-butilo), amida (-C(O)NH-alquil- o -alquilNHC(O)alquilo), amidinilo (-C(NH)NH-alquilo o -C(NR)NH₂), amina (primaria, secundaria y terciaria, tales como alquilamino, arilamino, arilalquilamino), arilo, carbamoilo (-NHC(O)O-alquil- o -OC(O)NH-alquilo), carbamilo (*por ejemplo*, CONH₂, así como CONH-alquilo, CONH-arilo), halo, haloalquilo (*por ejemplo*, -CCl₃, -CF₃, -C(CF₃)₃), heteroalquilo, imina (primaria y secundaria), isocianato, isotiocianato, tiol (*por ejemplo*, sulfhidrilo, tioéter) o urea (-NHCONH-alquil-).

A menos que se indique otra cosa, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o gestión de una enfermedad o afección, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, en solitario o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o gestión de la enfermedad o afección. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" puede incluir una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita los síntomas o causas de una enfermedad o afección, o mejora la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

A menos que se indique otra cosa, los términos "trata", "tratar" y "tratamiento" contemplan una acción que sucede mientras un paciente padece la enfermedad o trastorno especificado, que reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno, o retarda o ralentiza el avance de la enfermedad o trastorno.

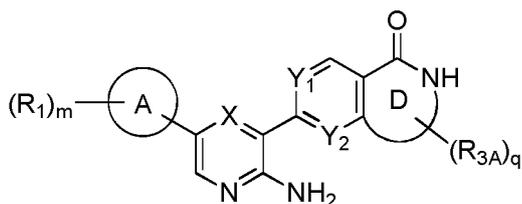
A menos que se indique otra cosa, uno o más adjetivos que preceden inmediatamente a una serie de sustantivos debe interpretarse como aplicable a cada uno de los sustantivos. Por ejemplo, la expresión "alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido" tiene el mismo significado que "alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido".

Debe observarse que un resto químico que forma parte de un compuesto más grande se puede describir en el presente documento usando un nombre comúnmente acordado cuando existe como una sola molécula o un nombre comúnmente concedido a su radical. Por ejemplo, los términos "piridina" y "piridilo" tienen el mismo significado cuando se usan para describir un resto unido a otros restos químicos. Por lo tanto, a las dos expresiones "XOH, en la que X es piridilo" y "XOH, en la que X es piridina", se les da el mismo significado, e incluyen los compuestos piridin-2-ol, piridin-3-ol y piridin-4-ol.

También debe observarse que si la estereoquímica de una estructura o de una porción de una estructura no está indicada, por ejemplo, con líneas en negrita o discontinuas, la estructura o la porción de la estructura debe entenderse como que abarca todos los estereoisómeros de la misma. De forma similar, los nombres de compuestos que tienen uno o más centros quirales que no especifican la estereoquímica de estos centros incluyen estereoisómeros puros y mezclas de los mismos. Además, se supone que cualquier átomo mostrado en un dibujo con valencias insatisfechas está unido a suficientes átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Además, los enlaces químicos representados con una línea continua paralela a una línea discontinua incluyen enlaces sencillos y dobles (por ejemplo, aromáticos), si las valencias lo permiten. Esta invención incluye los tautómeros y solvatos (por ejemplo, hidratos) de los compuestos desvelados en el presente documento.

5.2. Compuestos de la invención

Esta invención incluye compuestos de la fórmula:

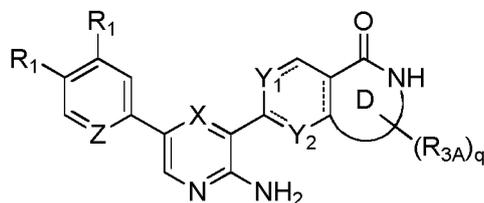


y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

- 5 A es arilo o heterociclo de 4-7 miembros;
 D es un heterociclo no aromático de 5-7 miembros;
 X es N o CH;
 cada uno de Y₁ e Y₂ es independientemente N o CH;
- 10 cada R₁ es independientemente R_{1A}, -(R_{1B})_nSO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nSO_p(R_{1C})₂, -(R_{1B})_nN(R_{1C})SO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nC(O)N(R_{1C})₂,
 o -(R_{1B})_nNR_{1C}C(O)R_{1C}, o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya
 sustitución opcional es con uno o más de R_{1A};
 cada R_{1A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 cada R_{1B} es independientemente hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido con uno o más de amino, alcoxilo,
 carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
- 15 cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12
 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
 cada R_{3A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;
- 20 k es 0 o 1;
 m es 0-3;
 n es 0 o 1;
 p es 0-2; y
 q es 0-2.

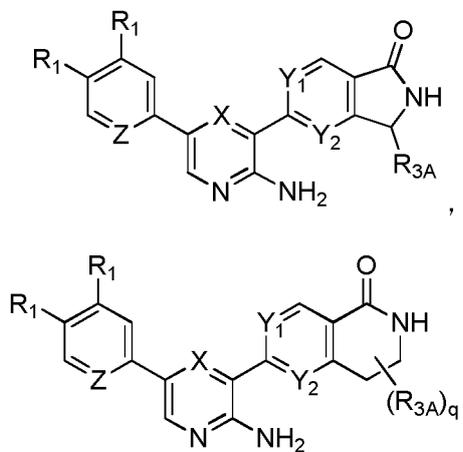
Los compuestos particulares de la invención son de la fórmula:

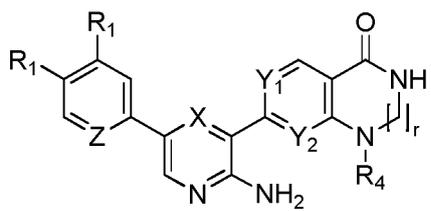
25



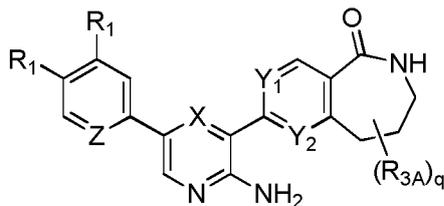
en la que Z es N o CR₁

- 30 Los compuestos particulares de la invención son de las fórmulas:





o



5

en las que r es 1 o 2, y R₄ es hidrógeno o alquilo.

10 Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que X es N.

Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que Y₁ es CH.

15 Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que Y₂ es CH.

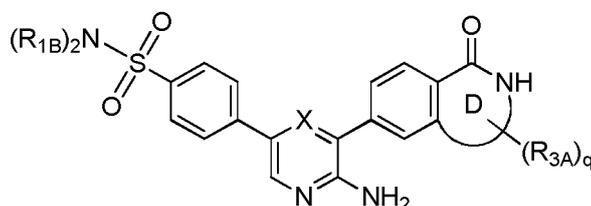
Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que Z es N.

20

Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que Z es CR₁.

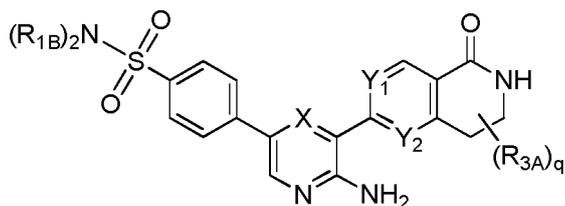
25 Cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento, los compuestos particulares de la invención son de tal forma que R₁ es -(R_{1B})_nSO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nSO_pN(R_{1C})₂, -(R_{1B})_nNR_{1C}SO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nC(O)N(R_{1C})₂, o -(R_{1B})_nNR_{1C}C(O)R_{1C}.

Los compuestos particulares de la invención son de la fórmula:



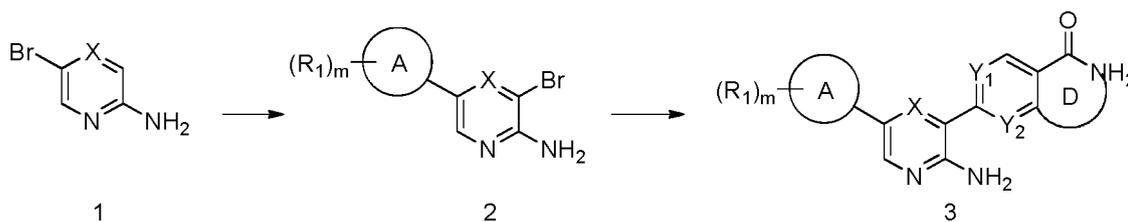
30

Otros compuestos son de la fórmula:



35

Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica y por métodos descritos en el presente documento. En general, los compuestos de la invención pueden prepararse como se muestra a continuación:



en el que el bromuro de 2-amino heteroarilo de partida **1** se acopla con un éster borónico aromático apropiado en condiciones de acoplamiento de Suzuki estándar para proporcionar, después del tratamiento con un reactivo de bromación electrófilo, bromuro de 2-amino hetero-biarilo **2**. El acoplamiento de Suzuki posterior de **2** con otro éster borónico aromático que presenta una funcionalidad amida proporciona el producto final **3**.

5.3. Métodos de uso

Esta invención se refiere a un método de inhibición de MST1, que comprende poner en contacto MST1 (in vitro o in vivo) con una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

Otra realización se refiere a un método de supresión de la respuesta inmune en un paciente (por ejemplo, un ser humano), que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

Otra realización se refiere a un método de tratamiento, gestión o prevención de una enfermedad o trastorno autoinmune o inflamatorio, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Los ejemplos de enfermedades y trastornos incluyen aclorhidra autoinmune, enfermedad de Addison, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, asma (por ejemplo, asma bronquial), dermatitis atópica, gastritis atrófica autoinmune, enfermedad de Behcet, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, dermatomiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, hepatitis (por ejemplo, inflamatoria e inducida con alcohol), atrofia adrenal idiopática, trombocitopenia idiopática, síndrome de Kawasaki, síndrome de Lambert-Eaton, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, miastenia gravis, penfigoide, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, polinosis, poliarteritis nodosa, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, psoriasis, artritis psoriática, Raynauds, síndrome de Reiter, policondritis recidivante, artritis reumatoide, síndrome de Schmidt, esclerodermia, síndrome de Sjogren, oftalmía simpática, artritis de Takayasu, arteritis temporal, tirotoxicosis, rechazo de trasplante (por ejemplo, de órgano, célula o médula ósea), diabetes de tipo 1, colitis ulcerosa, uveítis, y granulomatosis de Wegener.

La cantidad, vía de administración y programa de dosificación de un compuesto dependerá de factores tales como la indicación específica que se va a tratar, prevenir o gestionar, y la edad, sexo y afección del paciente. Los papeles desempeñados por tales factores son bien conocidos en la técnica, y pueden acomodarse mediante experimentación rutinaria. En una realización particular, se administra un compuesto de la invención a un paciente humano en una cantidad de aproximadamente 1-50, 1-25, o 2,5-15, o 5-10 mpk.

Los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros fármacos inmunosupresores o antiinflamatorios. Los fármacos se pueden administrar al mismo tiempo o en momentos diferentes.

Los ejemplos de inmunosupresores incluyen aminopterina, azatioprina, ciclosporina A, D-penicilamina, sales de oro, hidroxiquina, leflunomida, metotrexato, minociclina, rapamicina, sulfasalazina, tacrolimus (FK506), y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un inmunosupresor particular es el metotrexato.

Los ejemplos adicionales incluyen anticuerpos anti-TNF, tales como adalimumab, certolizumab pegol, etanercept, e infliximab. Otros incluyen bloqueadores de la interleucina-1, tales como anakinra. Otros incluyen anticuerpos anti-células B (CD20), tales como rituximab. Otros incluyen bloqueadores de la activación de linfocitos T, tales como abatacept.

Los ejemplos adicionales incluyen los inhibidores de la inosina monofosfato deshidrogenasa, tales como micofenolato de mofetilo (CellCept®) y ácido micofenólico (Myfortic®).

Los ejemplos de fármacos antiinflamatorios incluyen glucocorticoides y AINE.

Los ejemplos de glucocorticoides incluyen aldosterona, beclometasona, betametasona, cortisona, desoxicorticosterona, dexametasona, fludrocortisonas, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

Los ejemplos de AINE incluyen los salicilatos (por ejemplo, aspirina, amoxiciprin, benorilato, salicilato de colina y

magnesio, diflunisal, faislamina, salicilato de metilo, salicilato de magnesio, salicilato de salicilo, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilalcanoicos (por ejemplo, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bromfenaco, etodolac, indometacina, nabumetona, sulindac, tolmetina, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilpropiónicos (por ejemplo, ibuprofeno, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, ketorolac, loxoprofeno, naproxeno; oxaprozina, ácido tiaprofénico suprofeno, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilantranílicos (por ejemplo, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), derivados de pirazolidina (por ejemplo, azapropazona, metamizol, oxifenbutazona, fenilbutazona, sulfiprazona, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), oxicams (por ejemplo, lornoxicam, meloxicam, piroxicam, tenoxicam, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), inhibidores de COX-2 (por ejemplo, celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), y sulfonanilidas (por ejemplo, nimesulida y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos).

5.4. Composiciones farmacéuticas

Esta invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la invención. Ciertas composiciones farmacéuticas son formas de dosificación unitarias adecuadas para administración oral, mucosal (*por ejemplo*, nasal, sublingual, vaginal, bucal, o rectal), parenteral (*por ejemplo*, subcutánea, intravenosa, inyección en bolo, intramuscular, o intraarterial), o transdérmica a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero sin limitación: comprimidos; pastillas, cápsulas, tales como cápsulas de gelatina blanda elástica, obleas; trociscos; grageas; dispersiones; supositorios; pomadas; cataplasmas (emplastos); pastas, polvos; apósitos; cremas; escayolas; soluciones; parches; aerosoles (por ejemplo, aerosoles nasales o inhaladores); geles; formas líquidas de dosificación adecuadas para administración oral o por mucosa a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite), soluciones y elixires; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que se pueden reconstituir para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente.

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

De forma similar, los compuestos poco solubles se pueden incorporar en formas de dosificación líquidas (y formas de dosificación adecuadas para la reconstitución) con la ayuda de agentes solubilizantes, emulsionantes y tensioactivos tales como, pero sin limitación, ciclodextrinas (por ejemplo, α -ciclodextrina, β -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 sin limitación, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butileno glicol, dimetil formamida, dimetilsulfóxido (DMSO), aceites biocompatibles (por ejemplo, aceite de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino, y sésamo), glicerol, tetrahidrofurfuril alcohol, polietilenglicoles, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos (por ejemplo, DMSO:aceite de maizcornoil).

La composición, forma y tipo de una forma de dosificación variará típicamente dependiendo del uso. Por ejemplo, una forma de dosificación utilizada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener cantidades mayores de uno o más de los principios activos que comprende una forma de dosificación utilizada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. De forma similar, una forma de dosificación parenteral puede contener cantidades más pequeñas de uno o más de los ingredientes activos que comprende una forma de dosificación oral usada para tratar la misma enfermedad. La explicación de tales diferencias será evidente para los expertos en la técnica. Véase, *por ejemplo*, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

5.4.1. Formas de dosificación oral

Las composiciones farmacéuticas de la invención adecuadas para la administración oral pueden presentarse como formas de dosificación discretas, tales como, pero sin limitación, comprimidos (por ejemplo, comprimidos masticables), pastillas, cápsulas, y líquidos (por ejemplo, jarabes aromatizados). Dichas formas de dosificación contienen cantidades predeterminadas de ingredientes activos y pueden prepararse por métodos de farmacia bien conocidos por los expertos en la técnica. Véanse de *manera general*, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

Las formas de dosificación orales típicas se preparan combinando el principio o principios activos en una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con las técnicas convencionales de composición farmacéutica. Los excipientes pueden tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la

administración.

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas de unidad de dosificación más ventajosas. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas habituales acuosas o no acuosas. Dichas formas de dosificación pueden prepararse mediante métodos de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación se preparan mezclando uniformemente e íntimamente los principios activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego moldeando el producto en la presentación deseada si es necesario. Los desintegrantes se pueden incorporar en formas de dosificación sólidas para facilitar la disolución rápida. También se pueden incorporar lubricantes para facilitar la fabricación de formas de dosificación (por ejemplo, comprimidos).

5.4.2. Formas de dosificación parenteral

Pueden administrarse formas de dosificación parenteral a los pacientes por diversas rutas, incluyendo la vía subcutánea, intravenosa (incluida la inyección en bolo), intramuscular, e intraarterial. Debido a que su administración típicamente evita 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 inyección, suspensiones listas para inyección y emulsiones.

Los vehículos adecuados que se pueden usar para proporcionar formas de dosificación parenterales de la invención se conocen bien por los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección de Ringer, Inyección de Dextrosa, Inyección de Dextrosa y Cloruro de Sodio, e Inyección de Ringer Lactato; vehículos miscibles en agua tales como alcohol etílico, polietilenglicol, y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo, y benzoato de bencilo.

6. Ejemplos

Los ejemplos que se refieren a la materia fuera del alcance de las reivindicaciones se proporcionan como Ejemplos de referencia.

6.1. Modelo de enfermedad de encefalomielitis experimental autoinmune (EAE)

Los ratones knockout y los compuestos se ensayaron en un modelo de enfermedad de EAE, que se llevó a cabo generalmente como se describe a continuación.

Modelo de ratón. Aquí, se implementó una adaptación del método de Bettelli, et al., J. Immunol. 161:3299 (1998). Se inmunizaron hermanos de camada C57Bl/6-Albino/129SvEv de ocho a 12 semanas de edad por vía subcutánea con un total de 300 µg de péptido MOG_{p35-55} (MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK) emulsificado en adyuvante completo de Freund (CFA) que contenía 250 µg de *Mycobacterium tuberculosis* inactivadas por calor H37 Ra (Difco Laboratories). El antígeno se dividió por igual entre dos sitios de inyección en los costados abdominales. Inmediatamente después de la inyección del antígeno emulsionado (día 0), cada ratón recibió una inyección intravenosa de 500 ng de toxina Pertussis (List Biological Laboratories). Los pesos de los animales se registraron antes del inicio del experimento y se controlaron a lo largo del experimento, 2-3 veces por semana. La gravedad de la enfermedad se puntuó en una escala de la siguiente manera: 0 = asintomática, ningún signo detectable de la enfermedad; 1 = ligera debilidad de la cola/cola floja y/o cuartos traseros caídos; 2 = parálisis total definida de la cola; 3 = caminar torcido/en balanceo leve y parálisis total de la cola y/o reflejo de enderezamiento alterado leve; 4 = balanceo fuerte con alteración del control-debilidad de las extremidades posteriores y/o reflejo de enderezamiento alterado; 5 = parálisis de una de las extremidades posteriores, posiblemente con debilidad leve de la parte anterior de la pata; 6 = parálisis de ambas extremidades posteriores y/o debilidad moderada a grave de la parte anterior del antebrazo; 7 = cuadriplejía/parálisis de todos los miembros posteriores y anteriores; 8 = moribundo/muerto. Cuando se puntuó la gravedad de la EAE con "2" o más, se pusieron en el suelo de la jaula una fuente de agua adicional que consistía en Napa Nectar™, y comida pre-humedecida. A los animales con grave de aparición de la enfermedad se les dio fluidoterapia subcutánea que consiste en 1 cc de solución salina normal un mínimo de una vez al día. Se sacrificaron animales que mostraban puntuaciones de 7-8 sin signos de recuperación durante más de 2 días.

Modelo de rata. La EAE se provocó en ratas de acuerdo con Mannie, M. D., et al., Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:5515-5519 (1985). Un péptido sintético que consiste en una secuencia análoga al determinante encefalitogénico de la longitud mínima informada de la molécula de proteína básica de mielina bovina (MBP) (MBP68-82: YGSLPQKAQRQDEN). A ratas Lewis (150-200 g, hembra; Charles River Laboratories, Wilmington, MA) se les inyectó por vía subcutánea en ambos lados de la raíz dorsal de la cola 0,1 ml de una emulsión que consistía en 100 µg de péptido MBP encefalitogénico en adyuvante completo de Freund que contenía 200 µg de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, cepa de Jamaica. Los animales inmunizados se controlaron diariamente para determinar el inicio y la progresión de la enfermedad, comenzando una semana después de la inmunización. La gravedad de la

enfermedad se puntuó como se ha descrito anteriormente.

Se sacrificaron animales que mostraban puntuaciones de 7-8 sin signos de recuperación durante más de 2 días.

5 **6.2. Modelo de enfermedad de artritis inducida por colágeno (CIA)**

Los ratones knockout y los compuestos se ensayaron en un modelo de enfermedad de CIA, que se llevó a cabo generalmente como se describe a continuación.

10 **Modelo de ratón.** Se inmunizaron ratones DBA/1 de ocho a 16 semanas de edad por vía intradérmica (i.d.) en varios sitios en la base de la cola con 100 µg de colágeno tipo II de pollo (CII; Sigma Chemical Co.) en adyuvante completo de Freund (CFA, Difco, Detroit, MI) que contenía 2,5 mg/ml de *M. tuberculosis*, seguido de una inyección de refuerzo de repetición i.d. de CII (100 µg emulsionada en CFA) administrada 3 semanas después de la inmunización primaria. Los ratones se controlaron a diario para detectar signos de artritis, y las puntuaciones de gravedad de la enfermedad se evaluaron mediante una puntuación visual de 0 a 4 de acuerdo con la siguiente escala: 0 = sin eritema ni hinchazón; 1 = eritema e inflamación leve de la articulación del pie o del tobillo; 2 = eritema e hinchazón leve que se extiende desde el tobillo hasta el pie medio; 3 = eritema e inflamación moderada que se extiende desde el tobillo hasta las articulaciones metatarsianas; 4 = eritema e hinchazón grave en el tobillo, el pie y los dedos. Las puntuaciones de gravedad total de la enfermedad se registraron como una suma de puntuaciones visuales para cuatro miembros. Además de la puntuación visual, se midió el grosor de la pata con un calibre micrométrico.

15 **Modelo de rata.** La CIA se provocó en ratas de acuerdo con Rosloniec, E. F., et al., Curr Protoc Immunol Capítulo 15: unidad 15, págs. 11-25. Aquí, a ratas Lewis (150-200 g, hembra; Charles River Laboratories, Wilmington, MA) se les inyectó por vía intradérmica en la base de la cola un total de 300 µl de una emulsión 1:1 de colágeno bovino de tipo II (CII; 150 µg en total; Sigma-Aldrich) y un adyuvante de Freund incompleto (IFA; 150 µl en total; Sigma-Aldrich), seguido de una inyección de refuerzo repetida de la misma emulsión 7 días después de la inmunización primaria. Las ratas se controlaron para detectar signos de artritis por puntuación clínica (observación visual) de cada pata de rata, utilizando la escala de clasificación descrita anteriormente. La extensión de la hinchazón se calculó restando los valores basales de la primera medición de los valores de las mediciones posteriores.

20 **30 6.3. Modelo de enfermedad de hepatitis inducida con concanavalina A (ConA)**

Este modelo se llevó a cabo generalmente como se indica a continuación. A ratones C57Bl/6-Albino/129SvEv se les inyectó por vía intravenosa (i/v) a través de la vena lateral de la cola una única dosis subletal de Concanavalina A de Canavalia ensiformis (Frijol, Tipo IV-S, polvo liofilizado, procesado asépticamente; Sigma) administrada a 10-16 mg/kg de peso corporal de ratón en un volumen total de 0,1-0,3 ml de PBS exento de pirógenos. Las inyecciones de la vena de la cola de ratones sujetos en un dispositivo de retención de ratón de Plexiglas se realizaron sin anestesia, utilizando una jeringuilla de 1 ml con una aguja de calibre 27. A las seis y 24 horas después de la inyección, se recogieron muestras de sangre mediante sangrado retro-orbital. Los animales se sacrificaron y se analizaron los sueros de las muestras de sangre para detectar la presencia de IL-12, TNF-α, MCP-1, IFN-γ, IL-10, e IL-6 utilizando una matriz de perlas citométricas (CBA) (BD Biosciences, Mountain View, CA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se adquirieron con un citómetro de flujo FACSCalibur y se analizaron con BD CBA Software (BD Biosciences). Los marcadores bioquímicos de la insuficiencia hepática se evaluaron midiendo enzimas de daño hepático en suero, aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), utilizando un analizador bioquímico clínico estándar. Los hígados de ratones tratados con ConA fueron seccionados y teñidos con H & E para evaluar el grado de inflamación inmune mediada por linfocitos T.

35 **6.4. Ratones Knockout MST1**

50 Se criaron ratones knockout MST1 (-/-) y sus hermanos de camada de tipo silvestre (C57Bl/6-Albino/129SvEv) y se evaluaron en modelos de enfermedad de hepatitis inducida por EAE, CIA, y ConA.

En el modelo de EAE, se ensayaron hermanos de camada de MST1-/- de ocho a 12 semanas de edad y de tipo silvestre (+/+) (C57Bl/6-Albino/129SvEv). En los ratones de tipo silvestre, la EAE comenzó tan pronto como el día 8 después de la inmunización, con un inicio medio a los días 11,4 ± 0,78 y 12,3 ± 0,9 (experimento n.º 1 y experimento n.º 2, respectivamente). El inicio de la enfermedad se retrasó significativamente en los animales deficientes en MST1 (día 16,6 ± 1,41 en el experimento n.º 1 y día 15,1 ± 1,1 en el experimento n.º 2; p = 0,005 y 0,06, respectivamente). En la fase aguda post-inmunización de la EAE (días 7-22), hubo una disminución de 4 a 6 veces en la puntuación de la enfermedad acumulativa media en ratones MST1-/- en comparación con sus hermanos de camada de tipo silvestre. Durante esta fase de la enfermedad, la puntuación clínica media fue significativamente menor en los ratones MST1-/- que en los animales +/+. Además, la puntuación máxima media de EAE observada en los animales MST1+/+ el día 17 después de la inmunización fue significativamente mayor que la puntuación máxima media de EAE en el grupo MST1-/-. Por lo tanto, la deficiencia homocigótica del gen MST1 retrasó significativamente el inicio de la EAE en ratones y alivió la gravedad de la EAE en la fase posterior a la inmunización aguda. En conjunto, estos resultados demuestran que los ratones MST1-/- desarrollan EAE menos grave con puntuaciones de enfermedad significativamente más bajas, y son menos susceptibles a la enfermedad en comparación con sus

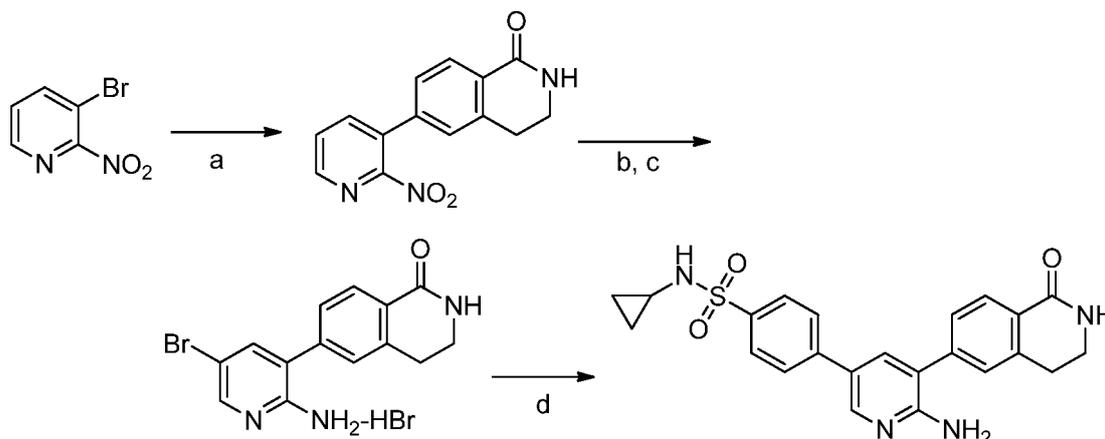
hermanos de camada de tipo silvestre.

En el modelo de CIA, se ensayaron ratones de control de ocho a 16 semanas de edad deficientes en MST1 y de tipo silvestre (C57Bl/6-Albino/129SvEv). Como se muestra en la figura 1, los ratones deficientes en MST1 mostraron una incidencia notablemente disminuida de artritis cuando se compararon con sus hermanos de camada silvestres (* indica $p < 0,03$). La hinchazón de las articulaciones y los signos clínicos de inflamación en las articulaciones de tobillo y muñeca fueron evidentes en los controles de tipo silvestre a partir del día 21 después de la inmunización inicial, mientras que los primeros signos de artritis medidos por puntuaciones de gravedad de ≥ 2 en los ratones deficientes MST1 se desarrollaron solo el día 42. La media de las puntuaciones acumulativas de artritis en el grupo de control de tipo silvestre se mantuvo superior a 3,5 durante todo el experimento. La gravedad de la artritis disminuyó significativamente en los ratones deficientes en MST1 con una puntuación media máxima de artritis acumulada de 1,8 y una media máxima Δ del espesor de tobillo de 70 μm alcanzada el día 49, mientras que la artritis en el grupo de control comenzó más temprano que el día 25 después de la inmunización, con una puntuación media de artritis acumulativa de 3,5 al día 28, una puntuación media máxima de artritis acumulativa de 6,2 al día 46 y una media máxima Δ del espesor del tobillo de 485 μm alcanzada por el día 32. Esta disminución significativa en la gravedad de la artritis en los ratones MST1^{-/-} persistió hasta el día 53 después de la primera inmunización.

En el modelo de hepatitis Con-A, se ensayaron ratones ^{-/-} y de tipo silvestre de control (C57Bl/6-Albino/129SvEv). El análisis de la producción de citocinas inducida por Con A reveló que los niveles séricos de IL-12, TNF- α , y MCP-1 disminuyeron significativamente en ratones MST1^{-/-} en comparación con hermanos de camada de tipo silvestre. De forma similar, la liberación de enzimas de daño hepático (ALT y AST) en ratones MST1^{-/-} fue menor en ratones deficientes en MST-1 que en ratones de tipo silvestre en dos experimentos independientes.

6.5. Método sintético general A y Síntesis de 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método general A, representado a continuación:



en el que: a es ácido 1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisquinolin-6-ilborónico, PdCl₂dppf-DCM, Cs₂CO₃, DMF, 100 °C; b es H₂, Pd/C, MeOH:DMF (1:2); c es Br₂, MeOH; y d es ácido 4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenilborónico, Pd(PPh₃)₄, Na₂CO₃ ac., n-BuOH, 100 °C.

En particular, una suspensión a temperatura ambiente de 3-bromo-2-nitropiridina (6,4 g, 31,57 mmol), ácido 1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisquinolin-6-ilborónico (6,63 g, 34,73 mmol), PdCl₂dppf-DCM (1,031 g, 1,26 mmol) y Cs₂CO₃ (15,43 g, 47,35 mmol) en DMF se sonicó durante 20 min mientras se evacuó iterativamente la mezcla de reacción y se cargo de nuevo con N₂ seco para realizar la desgasificación. Después, la suspensión desgasificada se calentó a 100 °C y la reacción se controló por LC/MS. Tras la finalización, la reacción se filtró y después se concentró al vacío. El material en bruto resultante se disolvió de nuevo en MeOH, se trató con gel de sílice (15 g), después se concentró al vacío a sequedad, y después se destiló azeotrópicamente con tolueno para retirar el metanol en trazas. El polvo se suspendió en DCM, después se evaporó instantáneamente sobre un lecho largo de sílice, eluyendo con MeOH al 4-10 %:DCM. Las fracciones puras se combinaron y se concentraron. El sólido de color pardo resultante se suspendió en DCM (15 ml), después se filtró para retirar las impurezas de color para proporcionar 6-(2-nitropiridin-3-il)-3,4-dihidroisquinolin-1(2H)-ona en forma de un sólido de color castaño (7,4 g, rendimiento del 87 %). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,63 (d, $J = 4,5$ Hz, 1 H), 8,23 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 8,04 (s a, 1 H), 7,86-7,98 (m, 2 H), 7,38 (s, 1 H), 7,35 (d, $J = 9,0$ Hz, 1 H), 3,37-3,44 (m, 2 H), 2,95 (t, $J = 6,3$ Hz, 2 H); ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 163,78, 156,77, 148,11, 142,04, 139,99, 137,26, 129,76, 128,46, 128,33, 127,63, 127,02, 126,19, 27,52; MS (EI) m/z : 270 [M+H]⁺; HRMS calc. para C₁₄H₁₂N₃O₃ [M+H]⁺ 270,0879, observado 270,0870.

Una solución de 6-(2-nitropiridin-3-il)-3,4-dihidroisquinolin-1(2H)-ona (7,4 g, 27,50 mmol) en metanol (100 ml) y

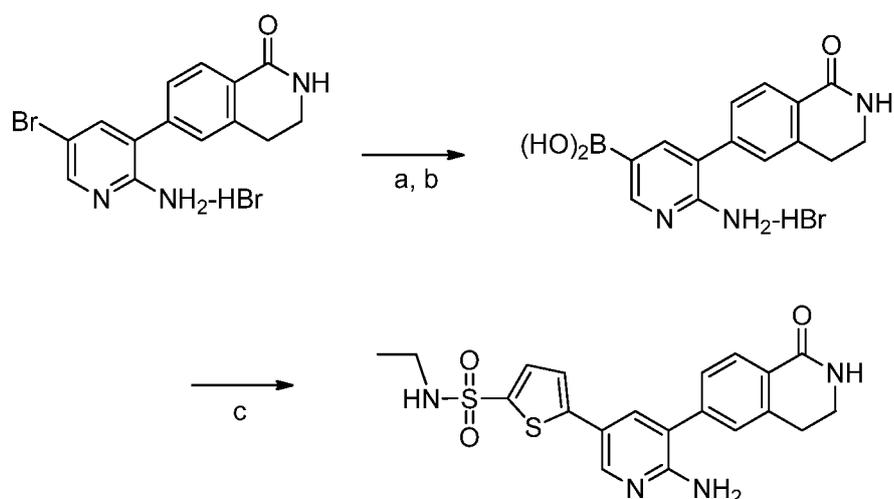
DMF (200 ml) se desgasificó evacuando iterativamente el matraz de reacción y cargándose de nuevo con nitrógeno seco (5 X). A la solución desgasificada se le añadió Pd al 10% sobre carbono (tipo Degussa, agua al 50 % en peso, 1,5 g). La reacción se cargó con hidrógeno (~1 atm) evacuando iterativamente el recipiente de reacción y cargándose de nuevo con hidrógeno (3 X). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación vigorosa y se controló por LC/MS. Tras la finalización, la reacción se desgasificó y se purgó con nitrógeno como anteriormente, después se calentó a 70 °C y se filtró mientras estaba caliente sobre una capa de celite. El lecho se aclaró con DMF (100 ml), que se calentó a 120 °C. Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío, y se destilaron azeotrópicamente con tolueno (2 x 150 ml) para retirar la DMF residual.

El sólido obtenido se trató con metanol (200 ml), después se calentó y se sonicó para proporcionar una suspensión lechosa. La suspensión se enfrió a 0 °C y se trató con bromo (1,48 ml, 28,88 mmol) mediante adición cuidadosa. La reacción se controló por LC/MS, y, después de la composición (15 min) se concentró al vacío. El material resultante se almacenó a alto vacío durante una noche para retirar el bromo en trazas para proporcionar bromhidrato de 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona en forma de un sólido de color pardo (11,16 g, rendimiento del 100 %), que se usó sin purificación adicional. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,31 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 8,03 (s a, 1 H), 8,00 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,45 (s, 1 H), 7,44 (s, 2 H), 3,38-3,45 (m, 2 H), 2,96 (t, J = 6,6 Hz, 2 H); ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 163,89, 151,88, 144,15, 140,08, 137,31, 136,47, 130,22, 128,00, 127,79, 127,10, 126,28, 104,76, 48,52, 27,70; MS (EI) m/z : 318, 320 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 318,0242, observado 318,0234.

Una suspensión del clorhidrato de 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona de bromhidrato de arilo (6,50 g, 16,25 mmol), ácido 4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenilborónico (6,57 g, 17,88 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (565 mg, 0,49 mmol) y Na_2CO_3 ac. 2,0 M (4,3 g, 48,75 mmol) en *n*-BuOH (180 ml) se desgasificó burbujeando una corriente de nitrógeno anhidro durante 10 min. Después, la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 3 h. Tras la finalización, la reacción caliente se diluyó con DMF (300 ml) y se calentó a 125 °C antes de filtrar la suspensión caliente sobre una capa de celite mojada con DMF caliente. Los extractos orgánicos se enfriaron a temperatura ambiente, después se trataron con gel de sílice (40 g) y el disolvente se retiró al vacío. El polvo seco se suspendió en DCM y se cargó sobre la parte superior de un lecho largo de gel de sílice licuado en DCM y el sistema se eluyó con MeOH al 10-20 %. Las fracciones que contenían el producto se concentraron, y el sólido resultante se suspendió en DMF caliente, y después se filtró. La torta se aclaró con MeOH, después se secó al vacío para proporcionar 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida en forma de un polvo de color blanco (5,3 g, rendimiento del 75%). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,62 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 8,34 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 8,13 (s a, 2 H), 8,07 (s a, 1 H), 8,04 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 7,99 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,88 (d, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,57 (s, 1 H), 7,56 (s, 2 H), 3,43 (t, J = 5,7 Hz, 2 H), 2,99 (t, J = 6,3 Hz, 2 H), 2,12 (tt, J = 6,8, 3,5 Hz, 1 H), 0,44-0,53 (m, 2 H), 0,36-0,44 (m, 2 H); MS (EI) m/z : 435 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

6.6. Método sintético general B y Síntesis de 5-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etiltiofeno-2-sulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método general B, representado a continuación:



en el que: a es NaHCO_3 1 N:DCM (1:1); b es MeLi, *t*-BuLi, $\text{B}(\text{O}i\text{-Pr})_3$, THF, -78 °C a temperatura ambiente; y c es 5-bromo-N-etiltiofeno-2-sulfonamida, $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, MeCN, Na_2CO_3 ac. 2,0 M, μ -ondas a 140 °C durante 6 min.

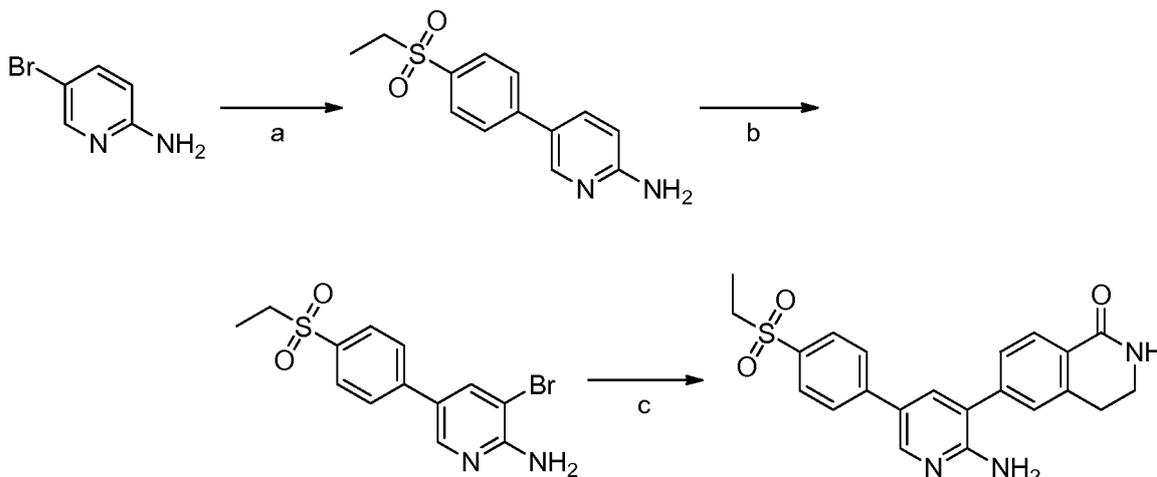
Una solución de bromhidrato de 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (2,00 g, 5,0 mmol), obtenida como se describe en el Ejemplo 5.2, se enfrió a 0 °C en DCM (50 ml) y se trató lentamente con una solución ac. 1 N de NaHCO_3 (25 ml). La solución enfriada se agitó vigorosamente durante 5 min, y después las

capas se separaron. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró, se concentró y después se secó vigorosamente al vacío. El sólido de color castaño resultante (1,54 g, 5,0 mmol) se disolvió en THF (500 ml), se enfrió a -78°C y se trató con una solución 1,6 M de MeLi en Et_2O (10,3 ml, 16,5 ml). La reacción se mantuvo durante 15 min, antes de la adición gota a gota de t-BuLi 1,7 M (8,8 ml, 14,96 mmol) durante 10 min. La solución enfriada se agitó vigorosamente durante 45 min más antes de la adición de triisopropilborato (5,2 ml, 22,5 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 min antes de interrumpirse con NH_4Cl sat. ac. (1 ml) seguido de agua (5 ml). El precipitado resultante se retiró por filtración y se lavó con agua fría, después se secó durante una noche al vacío para proporcionar ácido (6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)borónico (1,10 g, rendimiento del 78%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,35 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 7,97 (s, 1 H), 7,92 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,76 (t, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 7,67 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,50 (d, $J = 3,8$ Hz, 1 H), 7,43-7,47 (m, 2 H), 6,21 (s, 2 H), 2,96 (t, $J = 6,4$ Hz, 2 H), 2,85-2,92 (m, 2 H); MS (EI) m/z : 284 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Una mezcla de ácido (6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)borónico (291 mg, 1,02 mmol), 5-bromo-N-etiltiofeno-2-sulfonamida (278 mg, 1,02 mmol), y $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (35 mg, 0,05 mmol) en n-BuOH (3 ml) se trató con una solución ac. 2,0 M de Na_2CO_3 (1 ml) y después se calentó por microondas a 140°C durante 6 min. Después, la reacción se filtró, y se purificó por HPLC para proporcionar 5-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etiltiofeno-2-sulfonamida en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por HPLC preparativa. ^1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 8,31 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,07 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,72 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 7,54 (dd, $J = 3,8, 2,1$ Hz, 1 H), 7,52 (d, $J = 1,7$ Hz, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 7,34 (d, $J = 3,8$ Hz, 1 H), 3,57 (dd, $J = 13,4, 6,5$ Hz, 1 H), 2,93-3,15 (m, 2 H), 1,85-2,03 (m, 3 H), 1,13 (dd, $J = 14,5, 7,2$ Hz, 3 H); MS (EI) m/z : 429 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

6.7. Método sintético general C y Síntesis de 6-(2-amino-5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona

El compuesto del título se preparó por el Método general C, representado a continuación:



en el que; a es ácido 4-(etilsulfonyl)fenilborónico, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Na_2CO_3 ac. 2,0 M, n-BuOH, reflujo; b es DCM, NBS; y c es ácido 1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-ilborónico, $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, Na_2CO_3 , MeCN, H_2O .

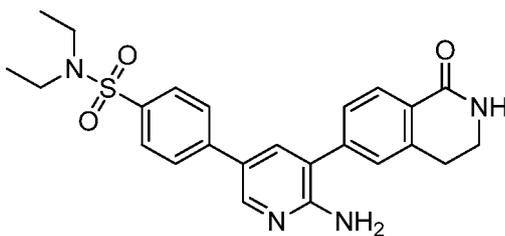
En particular, una suspensión de 2-amino-5-bromopiridina (1,24 g, 4,67 mmol), ácido 4-(etilsulfonyl)fenilborónico (1,10 g, 5,14 mmol), y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,16 g, 0,13 mmol) en n-BuOH (20 ml) se trató con Na_2CO_3 2,0 M ac. (4,5 ml). La reacción se roció con N_2 seco en sonicación durante 10 min hasta desgasificar, y después se calentó a reflujo durante 16 h a 100°C . Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. El residuo se repartió entre EtOAc (50 ml) y agua (30 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron Na_2SO_4 y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 30-100 %:hexano) para proporcionar 5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-2-amina en forma de un sólido de color blanco (0,57 g, rendimiento del 47%). ^1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 8,27-8,31 (m, 1 H), 7,91-7,98 (m, 2 H), 7,79-7,89 (m, 3 H), 6,71 (dd, $J = 8,7, 0,7$ Hz, 1 H), 3,30-3,35 (m, 2 H), 3,24 (c, $J = 7,4$ Hz, 2 H), 1,25 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); MS (EI) m/z : 263 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Una solución a temperatura ambiente de 5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-2-amina (0,56 g, 2,14 mmol) en DCM (15 ml) se trató con NBS (0,42 g, 2,35 mmol) y la reacción se mantuvo durante 1,5 h. Tras la finalización, la mezcla se lavó con una solución ac. sat. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (10 ml), seguido de NaHCO_3 sat. ac. (10 ml) y salmuera (5 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , después se filtró y se concentró para dar 3-bromo-5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-2-amina (560 mg, rendimiento del 77%) en forma de un sólido de color naranja. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,37-8,49 (m, 1 H), 8,15-8,25 (m, 1 H), 7,90-7,96 (m, 2 H), 7,85-7,90 (m, 2 H), 6,60 (s, 2 H), 3,34 (c, $J = 7,4$ Hz, 2 H), 1,11 (t,

$J = 7,4$ Hz, 3 H); MS (EI) m/z : 343, 341 [M+H]⁺.

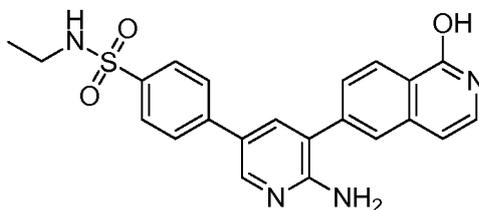
Una mezcla de la 3-bromo-5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-2-amina (100 mg, 0,29 mmol), ácido 1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-ilborónico (75 mg, 0,29 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (7,0 mg, 0,01 mmol) y Na₂CO₃ en 3:1 de MeCN:H₂O se calentó por microondas a 150°C durante 3 min. Tras la finalización, la mezcla de reacción se filtró, después se purificó por HPLC preparativa para proporcionar 6-(2-amino-5-(4-(etilsulfonyl)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona en forma de un sólido de color amarillo pálido (48 mg, rendimiento del 41 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 8,37 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,94 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,89 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,81 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,53 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,49 (s, 1 H), 3,56 (t, $J = 6,7$ Hz, 2 H), 3,19-3,27 (m, 2 H), 3,07 (c, $J = 6,5$ Hz, 2 H), 1,25 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H); MS (EI) m/z : 408 [M+H]⁺.

6.8. Síntesis de 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida



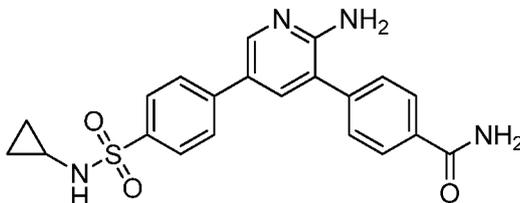
El método general A se aplicó a ácido 4-(N,N-dietilsulfamoil)fenilborónico, proporcionando 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida después de la purificación por HPLC preparativa. ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 8,33 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,85 (m, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,76-7,82 (m, 3 H), 7,53 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 4,10 (c, $J = 7,1$ Hz, 4 H), 3,56 (t, $J = 6,7$ Hz, 2 H), 3,26 (c, $J = 7,0$ Hz, 6 H), 3,07 (t, $J = 6,7$ Hz, 2 H); MS (EI) m/z : 451 [M+H]⁺.

6.9. Síntesis de 4-(6-amino-5-(hidroxiisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida



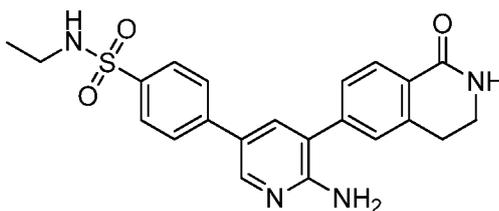
El método general C se aplicó a ácido 4-(N-etilsulfamoil)fenilborónico y 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolin-1-ol para proporcionar 4-(6-amino-5-(1-hidroxiisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,31 (d, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 8,47 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,30 (d, $J = 8,3$ Hz, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 7,96 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H), 7,80-7,86 (m, 3 H), 7,64 (dd, $J = 8,3, 1,5$ Hz, 1 H), 7,58 (dd, $J = 11,3, 5,5$ Hz, 1 H), 7,23 (dd, $J = 12,8, 6,8$ Hz, 1 H), 6,60 (d, $J = 7,0$ Hz, 1 H), 2,75-2,84 (m, 2 H), 0,98 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H); MS (EI) m/z : 421 [M+H]⁺.

6.10. Síntesis de 4-(2-amino-5-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)benzamida



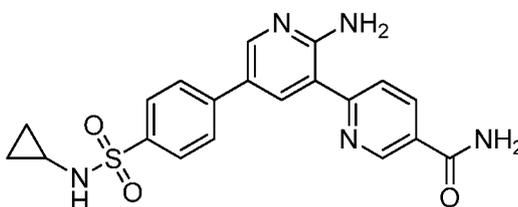
El método general B se aplicó a 4-bromo-N-ciclopropilbencenosulfonamida (41 mg, 0,15 mmol), ácido 6-amino-5-(4-carbamoyl)fenil)piridin-3-ilborónico (53 mg, 0,15 mmol), para proporcionar 4-(2-amino-5-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)benzamida en forma de un sólido de color blanco (29 mg, rendimiento del 41%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,42 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,03 (s a, 1 H), 7,98 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H), 7,90 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,87 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,80 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,76 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,61 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H), 7,37 (s a, 1 H), 6,06 (s a, 2 H), 2,06-2,13 (m, 1 H), 0,42-0,50 (m, 2 H), 0,35-0,42 (m, 2 H); MS (EI) m/z : 409 [M+H]⁺.

6.11. Síntesis de 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida



5 El método general B se aplicó a 4-(6-amino-5-bromopiridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida (50 mg, 0,141 mmol) y ácido 4-(N-etilsulfamoil)fenilborónico (64 mg, 0,336 mmol) para proporcionar 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida en forma de un sólido de color blanco (28 mg, rendimiento del 47 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,35 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,08 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,90 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 7,79-7,84 (m, 3 H), 7,48-7,58 (m, 2 H), 3,57 (t, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 3,08 (t, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 2,93 (c, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 1,08 (t, *J* = 7,3 Hz, 3 H); MS (EI) *m/z*: 423 [M+H]⁺.

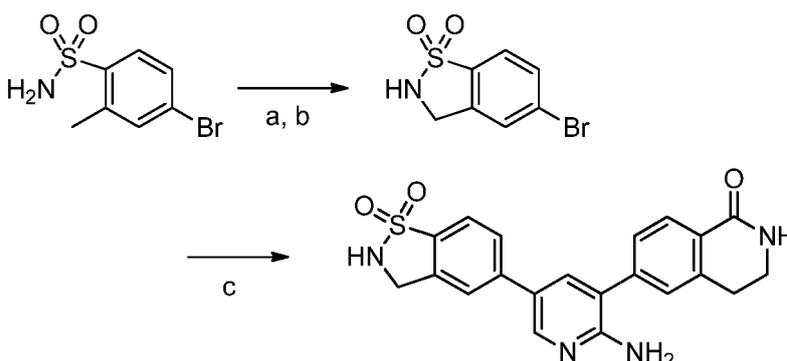
6.12. Síntesis de 2'-amino-5'-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)-2,3'-bipiridina-5-carboxamida



15 El método general B se aplicó a 4-(6-amino-5-bromopiridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (112 mg, 0,304 mmol) y ácido 5-carbamoilpiridin-2-ilborónico (75 mg, 0,453 mmol) para proporcionar 2'-amino-5'-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)-[2,3'-bipiridina]-5-carboxamida en forma de un sólido de color blanco (35 mg, rendimiento del 28 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,07-9,16 (m, 1 H), 8,53 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,47 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,32 (dd, *J* = 14,1, 10,8 Hz, 2 H), 8,21 (s a, 1 H), 8,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 7,91 (d, *J* = 2,5 Hz, 1 H), 7,85 (d, *J* = 8,3 Hz, 2 H), 7,79 (s a, 2 H), 7,61 (s a, 1 H), 2,06-2,18 (m, 1 H), 0,34-0,55 (m, 4 H); MS (EI) *m/z*: 410 [M+H]⁺.

6.13. Síntesis de -6-(2-amino-5-(1,1-dióxido-2,3-dihidrobenzo[d]isotiazol-5 il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación.



30 en el que: a es AIBN, NBS, PhMe, 15 h; b es K₂CO₃, 12 h; c es Pd(PPh₃)₄, Na₂CO₃, ácido (6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)borónico.

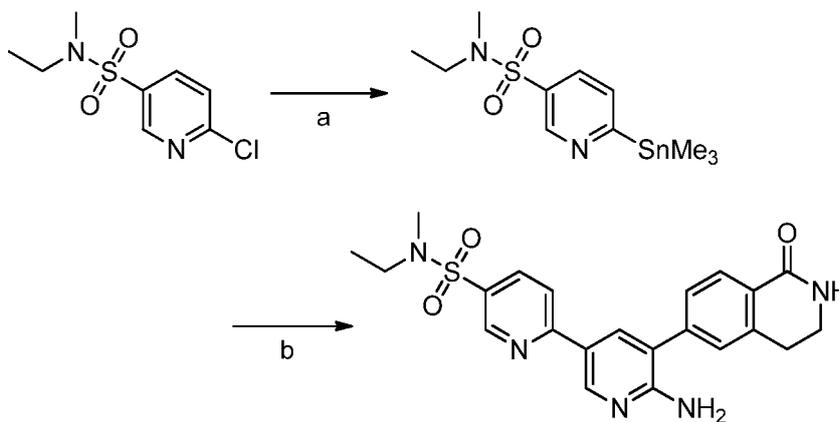
35 A una solución de 4-bromo-2-metilbencenosulfonamida (496 mg, 2,0 mmol) en tolueno (10 ml) a temperatura ambiente se le añadieron AIBN (383 mg, 2,20 mmol) y N-bromosuccinimida (389 mg, 2,20 mmol). La mezcla se calentó a 90 °C durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió agua (20 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un sólido de color amarillo pálido (170 mg, rendimiento del 26 %) que se recogió en DMF (5 ml) y se trató con K₂CO₃ (196 mg, 2,0 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de la filtración y la concentración, el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 4-10

%/DCM) para proporcionar 1,1-dióxido de 5-bromo-2,3-dihidrobenzo[d]isotiazol en forma de un sólido de color blanco (108 mg, rendimiento del 85%).

5 El método general B se aplicó a 1,1-dióxido de 5-bromo-2,3-dihidrobenzo[d]isotiazol (108 mg, 0,44 mmol) y (140 mg, 0,48 mmol) para proporcionar 6-(2-amino-5-(1,1-dióxido-2,3-dihidrobenzo[d]isotiazol-5-il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,35 (s a, 1 H), 8,05-8,14 (m, 2 H), 7,86 (s, 2 H), 7,82 (s, 1 H), 7,57 (s, 1 H), 7,53 (s, 1 H), 4,52 (s, 2 H), 3,57 (t, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 3,09 (t, *J* = 6,5 Hz, 2 H); MS(EI) *m/z* = 407,5 [M+H]⁺

10 6.14. Método general D y síntesis de 6'-amino-N-ciclopropil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método general D, representado a continuación:

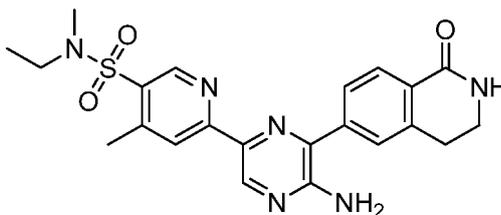


15 en el que: a es Sn(Me)₄ y Pd(PPh₃)₄ dioxano, 90 °C; y b es Pd(PPh₃)₄, 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona, dioxano, 90 °C.

20 6-cloro-N-etil-N-metilpiridina-3-sulfonamida (2,34 g, 10,0 mmol), tetrametil estaño (1,08 g, 10,00 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (572 mg, 0,50 mmol) se mezclaron en dioxano (5 ml). Después de la desgasificación, la mezcla se calentó a 90 °C. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. Después, el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre alúmina (eluyente de cloroformo al 20-100 %/hexano) para proporcionar N-etil-N-metil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (1,46 g, rendimiento del 40%).

25 Una mezcla de N-etil-N-metil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (225 mg, 0,6 mmol) y 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (190 mg, 0,6 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (34 mg, 0,03 mmol) en dioxano (3 ml) se desgasificó y se calentó a 90 °C. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice para proporcionar 6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (134 mg, rendimiento del 50%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,88 (dd, *J* = 17,9, 2,1 Hz, 2 H), 8,17-8,22 (m, 1 H), 8,10-8,16 (m, 2 H), 7,94 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 7,43-7,51 (m, 2 H), 3,41 (s, 2 H), 3,30 (s, 3 H), 2,97 (t, *J* = 6,4 Hz, 2 H), 0,86 (t, *J* = 7,3 Hz, 3 H); MS (EI) *m/z* = 438,5 [M+1]⁺.

35 6.15. Síntesis de 6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,4-dimetilpiridina-3-sulfonamida

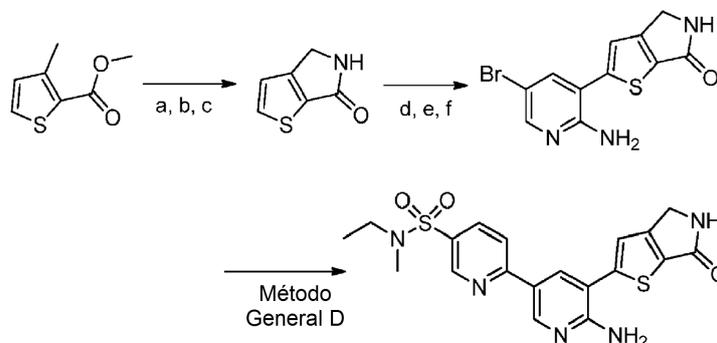


40 El método general D se aplicó a N-etil-N,4-dimetil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (233 mg, 0,6 mmol) y 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (190 mg, 0,6 mmol) para dar 6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,4-dimetilpiridina-3-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (41 mg, rendimiento del 33 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,96 (s, 1 H), 8,84 (s, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 7,93-8,04 (m, 2 H), 7,73 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 3,39-3,47 (m, 2 H), 3,23 (c, *J* = 7,3 Hz, 2 H), 3,01 (t, *J* = 6,5 Hz, 2 H), 2,81 (s, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 1,09 (t, *J* = 7,2 Hz, 3

H); MS (EI) $m/z = 453 [M+1]^+$.

6.16. Síntesis de 6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(6-oxo-5,6-dihidro-4H-tieno[2,3-c]pirrol-2-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida

5 El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



10 en el que: a es AIBN, NBS, CCl_4 ; b es NH_3 , MeOH, DMF; c es K_2CO_3 , MeOH:EtOH (1:1); d es Br_2 , HOAc, agua e es (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-il)carbamato de terc-butilo, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Na_2CO_3 2,0 M ac., n-BuOH (5 ml) y; f es NBS, DMF.

15 A una solución de 3-metilthiopheno-2-carboxilato de metilo (10,0 g, 64,0 mmol) en CCl_4 (100 ml) se le añadieron AIBN (180 mg, 1,1 mmol) y N-bromosuccinimida (11,4 g, 64,0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 10 min, y después se añadió una porción adicional de AIBN (460 mg, 2,8 mmol). Esta reacción se calentó durante una noche a 90 °C en un condensador de reflujo. Tras la finalización, la reacción se filtró sobre un lecho corto de gel de sílice (eluyente de DCM al 100 %). El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 2 %/hexano) para proporcionar 3-(bromometil)thiopheno-2-carboxilato de metilo (9,5 g, rendimiento del 63 %) en forma de un sólido de color blanco. ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,66 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 7,23 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 4,95 (s, 2 H), 3,89 (s, 3 H); MS (EI) $m/z = 236,1 [M+1]^+$.

25 A una solución de 3-(bromometil)thiopheno-2-carboxilato (9,3 g, 39,6 mmol) en DMF (150 ml) se le añadió NH_3 7,0 N en MeOH (150 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la reacción se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (MeOH al 5 %-10 %/DCM) para proporcionar 3-(aminometil)thiopheno-2-carboxilato de metilo (4,86 g, rendimiento del 72 %) en forma de un sólido de color blanco. ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,83 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 7,28 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 4,45 (s, 2 H), 3,94 (s, 3 H); MS (EI) $m/z = 172,2 [M+1]^+$.

30 Una mezcla de 3-(aminometil)thiopheno-2-carboxilato de metilo (4,5 g, 26,3 mmol) y K_2CO_3 (3,64 g, 26,3 mmol) en 1:1 de MeOH:EtOH (600 ml) se calentó durante una noche a reflujo. La reacción se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc al 50-100 %/hexano) para producir 4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (2,2 g, rendimiento del 60 %) en forma de un sólido de color blanco. ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,87 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 7,17 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 4,39 (s, 2 H); MS (EI) $m/z = 140,2 [M+1]^+$.

35 Una solución de 4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (1,0 g, 7,2 mmol) en ácido acético (9 ml) y agua (7 ml) se enfrió a 0 °C. Se añadió bromo (407 μl , 7,92 mmol) y la reacción se mantuvo a 0 °C durante 1,5 h. Tras la finalización, se añadió agua (30 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con Na_2SO_3 ac. al 5 % (30 ml), NaHCO_3 ac. sat. (30 ml) y salmuera (30 ml), después se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (MeOH al 5 %/DCM) para producir 2-bromo-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (1,3 g, rendimiento del 83 %) en forma de un sólido de color blanco. ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,28 (s, 1 H), 4,39 (s, 3 H); MS (EI) $m/z = 140,2 [M+1]^+$.

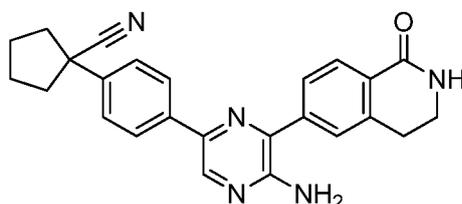
45 Una solución de (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-il)carbamato de terc-butilo (736 mg, 2,3 mmol), 2-bromo-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (500 mg, 2,3 mmol) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (40 mg, 0,035 mmol) en n-BuOH (5 ml) y Na_2CO_3 2,0 M (4,6 ml) se desgasificó y la mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo a 110 °C durante 2 h. Después de que se completara, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, y se lavó con MeOH (10 ml) y agua (2 x 10 ml). El sólido se secó a alto vacío produciendo 2-(2-aminopiridin-3-il)-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (383 mg, rendimiento del 72 %) en forma de un sólido de color pardo claro. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,40 (s a, 1 H), 8,00 (dd, $J = 5,0, 1,8$ Hz, 1 H), 7,52 (dd, $J = 7,3, 1,8$ Hz, 1 H), 7,36 (s, 1 H), 6,66 (dd, $J = 7,4, 4,9$ Hz, 1 H), 5,99 (s, 2 H), 4,32 (s, 2 H); MS (EI) $m/z = 232,3 [M+1]^+$.

A una solución de 2-(2-aminopiridin-3-il)-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (350 mg, 1,52 mmol) en DMF (5 ml) se le

añadió NBS (297 mg, 1,67 mmol). Tras la finalización, la reacción se concentró y el residuo se recogió en MeOH al 20 %/DCM (10 ml), después se filtró y se concentró. Después del secado a alto vacío, se aisló 2-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (313 mg, rendimiento del 66 %) en forma de un sólido de color pardo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,44 (s a, 1 H), 8,08 (d, *J* = 2,5 Hz, 1 H), 7,67 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 7,39 (s, 1 H), 6,27 (s a, 2 H), 4,32 (s, 2 H); MS (EI) *m/z* = 311,2 [M+1]⁺.

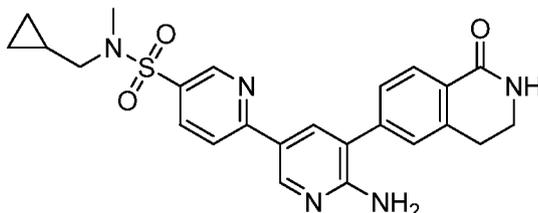
El método general D se aplicó a N-etil-N-metil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (218 mg, 0,6 mmol) y 2-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-4H-tieno[2,3-c]pirrol-6(5H)-ona (186 mg, 0,6 mmol) para dar 6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(6-oxo-5,6-dihidro-4H-tieno[2,3-c]pirrol-2-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (94 mg, rendimiento del 38 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,91 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 8,87 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,44 (s, 1 H), 8,26 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,10-8,20 (m, 2 H), 7,43 (s, 1 H), 6,65 (s, 2 H), 4,35 (s, 2 H), 3,30 (s, 4 H), 3,09 (dd, *J* = 14,3, 7,0 Hz, 2 H), 2,72 (s, 3 H), 1,06 (t, *J* = 7,0 Hz, 3 H); MS (EI) *m/z* = 430 [M+1]⁺.

15 6.17. Síntesis de 1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopentanocarbonitrilo



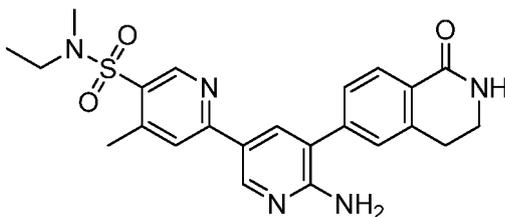
El método general A se aplicó a 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)ciclopentanocarbonitrilo (149 mg, 0,5 mmol) y 6-(3-amino-6-bromopirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (180 mg, 0,5 mmol) para dar 1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopentanocarbonitrilo en forma de un sólido de color amarillo (89 mg, 0,22 mmol, rendimiento 44 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,60 (s, 1 H), 8,02 (d, *J* = 8,3 Hz, 3 H), 7,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,72-7,78 (m, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 7,57 (m, *J* = 8,5 Hz, 3 H), 3,38-3,45 (m, 2 H), 2,99 (t, *J* = 6,4 Hz, 2 H), 2,37-2,46 (m, 2 H), 2,03-2,16 (m, 2 H), 1,84-1,94 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 410,5 [M+1]⁺.

6.18. Síntesis de 6'-amino-N-(ciclopropilmetil)-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida



El método general D se aplicó a N-(ciclopropilmetil)-N-metil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (233 mg, 0,6 mmol) y 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (190 mg, 0,6 mmol) para dar 6'-amino-N-(ciclopropilmetil)-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (127 mg, 0,27 mmol, rendimiento del 46 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,87 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 8,84 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 8,05-8,19 (m, 3 H), 7,90-7,98 (m, 2 H), 7,43-7,50 (m, 2 H), 6,34 (s, 2 H), 3,38-3,45 (m, 2 H), 2,97 (t, *J* = 1,0 Hz, 2 H), 2,91 (d, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 2,80 (s, 3 H), 0,85-0,96 (m, 1 H), 0,43-0,51 (m, 2 H), 0,16-0,21 (m, 2 H); MS (EI) *m/z* = 464,5 [M+1]⁺.

40 6.19. Síntesis de 6'-amino-N-etil-N,4-dimetil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida

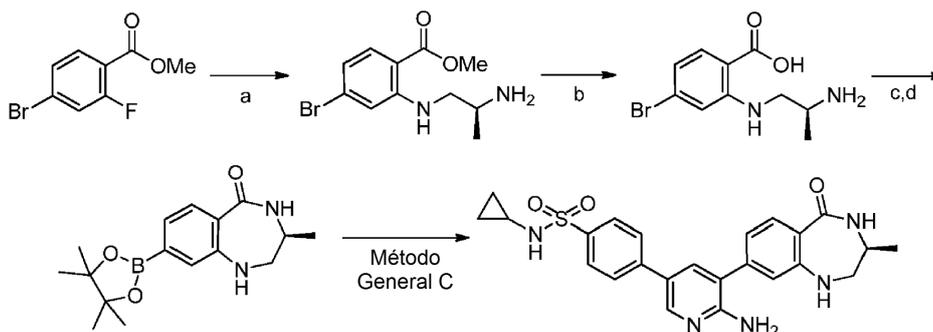


El método general D se aplicó a N-etil-N,4-dimetil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (226 mg, 0,6 mmol) y 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (190 mg, 0,6 mmol) para dar 6'-amino-N-etil-N,4-dimetil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (41

mg, rendimiento del 33 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,84-8,88 (m, 2 H), 8,56 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H), 8,06 (s a, 1 H), 8,00 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,49-7,56 (m, 2 H), 3,38-3,48 (m, 2 H), 3,23 (c, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 3,00 (t, $J = 6,3$ Hz, 2 H), 2,81 (s, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 1,09 (t, $J = 7,0$ Hz, 3 H); MS (EI) $m/z = 452,5[\text{M}+1]^+$.

6.20. Método general E y síntesis de (S)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzor[e]-[1,4]diazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método general E, representado a continuación:



en el que: a es (S)-propano-1,2-diamina, DMF, calentamiento por microondas; b es NaOH, MeOH, 70 °C, 2 h; c es HATU, DMF; d es $\text{Pd}(\text{dba})_3$, (Bpin) $_2$, 90 °C.

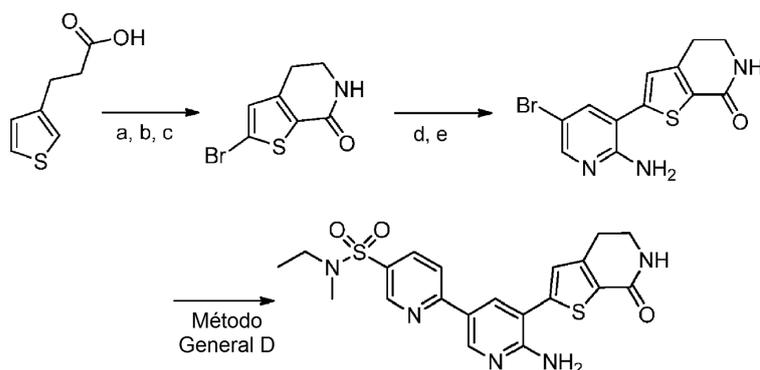
Una suspensión de 4-bromo-2-fluorobenzoato de metilo (4,66 mg, 20,0 mmol), (S)-propano-1,2-diamina (2,22 g, 30 mmol) y K_2CO_3 (2,94 g, 3,0 mmol) se calentó por microondas a 140 °C durante 15 min. Después de la filtración y la concentración, el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (eluyente de MeOH al 2-10 %/DCM) para proporcionar 2-((2-aminopropil)amino)-4-bromobenzoato de (S)-metilo (2,66 g, 9,20 mmol) en forma de un sólido oleoso de color blanco. Este material se disolvió en metanol (160 ml) y se trató con NaOH (13,5 g, 200,0 mmol), y después se calentó a 70 °C durante una noche. Tras la finalización, la reacción se neutralizó a pH ~7 con HCl conc. ac. y el sólido se filtró y se lavó con MeOH. El filtrado combinado se concentró para proporcionar ácido (S)-2-((2-aminopropil)amino)-4-bromobenzoico en forma de un sólido de color blanco. Este sólido se usó sin purificación adicional (2,5 g, rendimiento del 46 %, 2 etapas).

A una solución del ácido (S)-2-((2-aminopropil)amino)-4-bromobenzoico en bruto (544 mg, 2,0 mmol) y Et_3N (731 mg, 7,24 mmol) en DMF se le añadió HATU (829 mg, 2,18 mmol). Después de 30 min, la mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-10 %/DCM) para proporcionar (S)-8-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-5(2H)-ona en forma de un sólido oleoso de color blanco (464 mg, rendimiento del 91 %). Este material se disolvió en dioxano (20 ml), después se trató con $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (83 mg, 0,09 mmol), PCy_3 (121 mg, 0,43 mmol), diboro pinacol éster (595 mg, 2,35 mmol) y KOAc (532 mg, 5,43 mmol), después se calentó a 90 °C durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se filtró y se concentró. El material en bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-10 %/DCM) para proporcionar (S)-3-metil-8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-5(2H)-ona (527 mg, rendimiento del 96 %) en forma de un sólido de color amarillo.

El método general C se aplicó a (S)-3-metil-8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-5(2H)-ona (303 mg, 0,7 mmol) y 4-(6-amino-5-bromopiridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida para dar (S)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (180 mg, rendimiento del 33 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. MS(EI) $m/z = 464,6 [\text{M}+1]^+$.

6.21. Síntesis de 6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(7-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



5 en el que: a es P_2O_5 , MsOH; b es $H_2NOH \cdot HCl$, NaOAc, MeOH, después PPA, 130 °C; c es Br_2 , HOAc; d es (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-il)carbamato de terc-butilo, $Pd(PPh_3)_4$, Na_2CO_3 ac., n-BuOH, 100 °C; y e es NBS, DMF.

10 A una suspensión de P_2O_5 (25,4 g, 179,0 mmol) en ácido metanosulfónico (100 ml) se le añadió ácido 3-(tiofen-3-il)propanoico (5,0 g, 32,0 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Tras la finalización, la reacción se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (eluyente de EtOAc al 20-30 %/hexano) para dar 4H-ciclopenta[b]tiofen-6(5H)-ona (1,34 g, rendimiento del 30 %) en forma de un sólido de color pardo. 1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 8,14 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 7,17 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 2,94-3,15 (m, 4 H); MS (EI) $m/z = 139,2$ $[M+1]^+$.

15 Una solución de 4H-ciclopenta[b]tiofen-6(5H)-ona (1,34 g, 9,7 mmol), hidroxilamina HCl (1,45 g, 20,8 mmol) y NaOAc (7,3 g, 89,0 mmol) en MeOH (150 ml) se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la reacción se concentró a presión reducida, se recogió en EtOAc (100 ml) y se filtró sobre un lecho de gel de sílice, eluyendo con EtOAc. El filtrado se concentró, se recogió en ácido polifosfórico (100 g) y se calentó durante 2 h a 130°C. Después de que se completara, la reacción se interrumpió por vertido sobre hielo-agua (100 ml). La mezcla acuosa se extrajo con DCM (2 x 100 ml) y los extractos combinados se lavaron con NaOH 0,1 M (100 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 ,
20 después se filtraron y se concentraron. Se aisló 5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (837 mg, rendimiento del 55 %) en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20-30 %/hexano). 1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 7,69 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 7,06 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 3,57 (t, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 2,94 (t, $J = 7,1$ Hz, 2 H); MS (EI) $m/z = 154,2$ $[M+1]^+$.

25 A una solución a 0 °C de 5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (820 mg, 5,36 mmol) en HOAc (7 ml) y (5 ml) agua se le añadió bromo (303 μ l, 5,9 mmol) y la reacción se agitó 1,5 h. La reacción se diluyó en agua (30 ml) y la mezcla acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con Na_2SO_3 ac. al 5 % (40 ml), $NaHCO_3$ sat. ac. (40 ml), y salmuera (40 ml). El producto orgánico se secó sobre Na_2SO_4 , después se filtró y se concentró. Después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 50-100 %/hexano), se aisló 2-bromo-5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (906 mg, rendimiento del 73 %) en forma de un sólido de color blanco. 1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,10 (s, 1 H), 3,55 (t, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 2,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 2 H); MS (EI) $m/z = 233,1$ $[M+1]^+$.

35 Una solución de (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-il)carbamato de terc-butilo (416 mg, 1,3 mmol), 2-bromo-5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (300 mg, 1,3 mmol) y $Pd(PPh_3)_4$ (23 mg, 0,02 mmol) en n-BuOH (3 ml) y Na_2CO_3 2 M (3 ml) se desgasificó por burbujeo de nitrógeno y la reacción se calentó 2 h a 100 °C. Después de que se completara, la reacción se filtró y se concentró a presión reducida, después se repartió entre DCM (10 ml) agua (10 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El concentrado se suspendió en EtOAc, se sonicó y se
40 filtró para proporcionar 2-(2-aminopiridin-3-il)-5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (281 mg, rendimiento del 88 %) en forma de un sólido de color blanco. 1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 7,99 (dd, $J = 5,0, 1,3$ Hz, 1 H), 7,62 (dd, $J = 7,5, 1,4$ Hz, 1 H), 7,25 (s, 1 H), 6,76 (dd, $J = 7,5, 5,1$ Hz, 1 H), 3,61 (t, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 2,97 (t, $J = 7,1$ Hz, 2 H); MS (EI) $m/z = 246,3$ $[M+1]^+$.

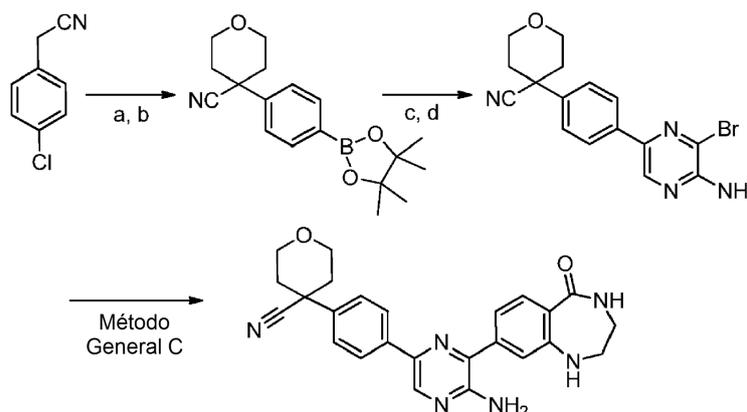
45 A una solución de 2-(2-aminopiridin-3-il)-5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (250 mg, 1,02 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió NBS (199 mg, 1,12 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se concentró y se recogió en DCM (10 ml). La solución orgánica se lavó con $Na_2S_2O_3$ sat. ac., después se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para dar 2-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-5,6-dihidrothieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (320 mg, rendimiento del 97%) en forma de un sólido de color naranja. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,06 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 7,73 (s a, 1 H), 7,66 (d, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 7,29 (s, 1 H), 6,23 (s a, 2 H), 3,40-3,50 (m, 2 H), 2,83 (t, $J = 6,9$ Hz, 2 H); MS (EI) $m/z = 325,2$ $[M+1]^+$.

50

La etapa final del método general D se aplicó a N-etil-N-metil-6-(trimetilstannil)piridina-3-sulfonamida (233 mg, 0,6 mmol) y 2-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-5,6-dihidrotieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona (194 mg, 0,6 mmol) para dar 6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(7-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida en forma de un sólido de color amarillo (140 mg, 0,31 mmol, rendimiento del 53 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa, ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,91 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 8,85 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,26 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,10-8,19 (m, 2 H), 7,73 (s a, 1 H), 7,33 (s, 1 H), 6,62 (s, 2 H), 3,44-3,50 (m, 2 H), 3,09 (s, 2 H), 2,86 (t, $J = 1,0$ Hz, 1 H), 2,72 (s, 3 H), 1,01-1,09 (m, 3 H); MS (EI) $m/z = 444,5$ $[\text{M}+1]^+$.

6.22. Método general F y síntesis de 4-(4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo

El compuesto del título se preparó mediante el método general F, representado a continuación:



en el que: a es NaH, $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, DMSO, 15 h; b es $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, $(\text{BPin})_2$, KOAc, 90 °C, 2 h; c es $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Na_2CO_3 , 2-aminopirizina, 90 °C, 2 h; d es NBS, DMF, ta, 2 h.

A una suspensión agitada de 2-(4-clorofenil)acetonitrilo (3,06 g, 20,3 mmol) a 0 °C en DMSO (200 ml) se le añadió NaH (1,79 g, 60 % en aceite mineral, 44,6 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 15 min y después a temperatura ambiente durante 30 min, dando como resultado una solución púrpura oscura. A esta solución se le añadió gota a gota 1-cloro-2-(2-cloroetoxi)etano (3,18 g, 22,33 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche antes de la dilución con 50 ml de agua y la neutralización a $\text{pH} \sim 7,0$ con HCl ac. 1,0 M. La reacción se extrajo con Et_2O (3 x 200 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 10-30 %/hexano) para proporcionar 4-(4-clorofenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo en forma de un sólido cristalino de color amarillo (4,01 g, rendimiento del 89 %) (Nota: Este compuesto no ioniza bien en LC/MS. No tiene una absorción de UV intensa a 220 nM. El F_r por TLC es de 0,6 en AE al 30 %/Hexano).

Una solución de 4-(4-clorofenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo (889 mg, 4,0 mmol), $\text{Pd}(\text{dba})_2$ (138 mg, 0,24 mmol), PCy_3 (268 mg, 0,96 mmol), diboro pinacol éster (1,21 g, 4,8 mmol) y KOAc (1,18 g, 12,0 mmol) en 16 ml de dioxano se calentó por microondas a 150 °C durante 15 min. La mezcla resultante se filtró, después se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/DCM) para proporcionar 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo en forma de un sólido cristalino de color amarillo (1,01 g, rendimiento del 81%).

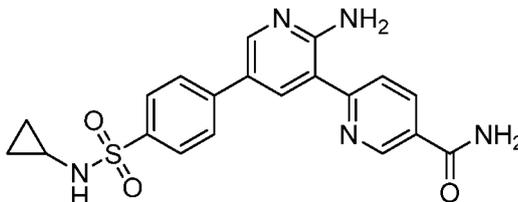
Una solución de 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo (1,53 g, 4,86 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (271 mg, 0,24 mmol), Na_2CO_3 2,0 M ac. (4,9 ml) y la 5-bromopirazin-2-amina (846 mg, 4,86 mmol) se combinaron en n-BuOH (20 ml). La suspensión se desgasificó durante 10 min en una corriente de burbujeo de nitrógeno anhidro, después se calentó a 90 °C durante 2 h. La mezcla resultante se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (eluyente de MeOH al 1-5 %/DCM) para proporcionar 4-(4-(5-aminopirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo (1,08 g, rendimiento del 79%).

A una solución de 4-(4-(5-aminopirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo (1,08 g, 3,84 mmol) en DMF (30 ml) se le añadió en una porción N-bromosuccinimida (747 mg, 4,22 mmol). Después, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Tras la finalización, la mezcla se vertió sobre hielo (50 ml) y se agitó durante 20 min. Después de la filtración y el lavado con agua y secado al vacío, se obtuvo 4-(4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo en forma de un sólido de color pardo oscuro (1,37 g, rendimiento del 100%).

El método general C se aplicó a 4-(4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo (215 mg,

0,6 mmol) y 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-5(2H)-ona (173 mg, 0,6 mmol) para proporcionar 4-(4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo en forma de un sólido de color amarillo (87 mg, rendimiento del 33%). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,47 (s, 1 H), 8,14 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 8,01 (d, *J* = 8,3 Hz, 2 H), 7,58 (d, *J* = 8,3 Hz, 2 H), 7,21 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 7,04 (s, 1 H), 6,40 (s a, 1 H), 4,93 (s a, 2 H), 4,57 (s a, 1 H), 4,12 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H), 3,94 (t, *J* = 11,7 Hz, 2 H), 3,50-3,73 (m, 4 H), 2,02-2,26 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 441,5 [M+1]⁺.

6.23. Síntesis de 2'-amino-5'-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)-[2,3'-bipiridinal-5-carboxamida

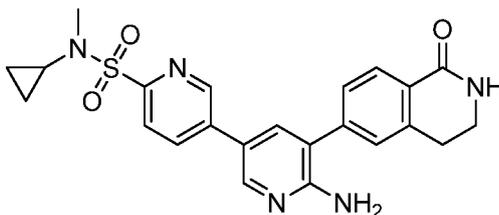


Una mezcla de 2-amino-5-bromopiridina (3,58 g, 20,7 mmol), N-ciclopropil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-bencenosulfonamida (5,00 g, 20,7 mmol), carbonato sódico (3,29 g, 31,05 mmol), y PdCl₂(PPh₃)₂ (0,436 g, 0,62 mmol) en 3:1 de acetonitrilo:agua se calentó por microondas a 80 °C durante 20 min, y después a 100 °C durante 15 min. Después, la reacción se calentó en un baño de aceite a 80 °C durante 16 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido se lavó con metanol (10 ml), y los filtrados combinados se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (MeOH al 0-5 %/DCM) para dar 4-(6-aminopiridin-3-il)-N-ciclopropilbenzenesulfonamida (2,08 g, rendimiento del 35%). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,27 (d, *J* = 2,01 Hz, 1 H), 7,88-7,95 (m, 2 H), 7,85 (d, *J* = 2,51 Hz, 1 H), 7,81-7,84 (m, 1 H), 7,71-7,79 (m, 2 H), 6,45-6,88 (m, 1 H), 1,89-2,41 (m, 1 H), 0,13-0,82 (m, 4 H); MS (EI) *m/z*: 290 [M+H]⁺. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %:NH₄OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) *t*_R = 1,34 min, 88 % de área integrada.

A una solución de 4-(6-amino-piridin-3-il)-N-ciclopropilbenzenesulfonamida (1,04 g, 3,59 mmol) en DCM (12 ml) se le añadió en porciones N-bromosuccinimida (0,64 g, 3,59 mmol). La reacción se agitó durante 1 h, después se filtró. El filtrado se lavó con Na₂S₂O₄ sat. ac. (20 ml), NaHCO₃ sat. ac. (10 ml), después se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar 4-(6-amino-5-bromo-piridin-3-il)-N-ciclopropil-benzenesulfonamida (1,07 g, rendimiento del 81%). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,30 (d, *J* = 2,01 Hz, 1 H), 8,12 (d, *J* = 2,01 Hz, 1 H), 7,92 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 7,76 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 2,19 (tt, *J* = 6,71, 3,58 Hz, 1 H), 0,17-0,83 (m, 4 H). MS (EI) *m/z*: 368, 370 [M+H]⁺. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %:NH₄OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) *t*_R = 1,68 min, 90 % de área integrada.

Una mezcla de 4-(6-amino-5-bromo-piridin-3-il)-N-ciclopropil-benzenesulfonamida (100 mg, 0,27 mmol), diboro pinacol éster (103 mg, 0,41 mmol), acetato potásico (40 mg, 0,41 mmol), Pd₂(dba)₃ (8 mg, 0,008 mmol), y PCy₃ (5 mg, 0,016 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se calentó a 80 °C para proporcionar 4-[6-amino-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-piridin-3-il]-N-ciclopropil-benzenesulfonamida (112 mg, rendimiento del 100 %) después de la purificación por HPLC preparativa. Este material se combinó con 6-cloro nicotinamida (42 mg, 0,27 mmol), Na₂CO₃ (43 mg, 0,41 mmol), y PdCl₂(PPh₃)₄ (6 mg, 0,008 mmol) en 3:1 de acetonitrilo:agua (2 ml). La mezcla de reacción se calentó por microondas a 150 °C durante 6 min. Tras la finalización, la mezcla de reacción se concentró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para dar 2'-amino-5'-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)-[2,3'-bipiridina]-5-carboxamida (7 mg, rendimiento del 6%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,11 (d, *J* = 1,25 Hz, 1 H), 8,53 (d, *J* = 2,26 Hz, 1 H), 8,47 (d, *J* = 2,26 Hz, 1 H), 8,26-8,39 (m, 2 H), 8,21 (s a, 1 H), 8,00 (d, *J* = 8,53 Hz, 3 H), 7,91 (d, *J* = 2,51 Hz, 1 H), 7,76-7,87 (m, 4 H), 7,62 (s a, 1 H), 2,12 (dd, *J* = 6,53, 3,51 Hz, 1 H), 0,46-0,54 (m, 2 H), 0,37-0,45 (m, 2 H). MS (EI) *m/z*: 410 [M+H]⁺. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %:NH₄OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) *t*_R = 1,39 min, 96% de área integrada.

6.24. Síntesis de 6'-amino-N-ciclopropil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[3,3'-bipiridina]-6-sulfonamida

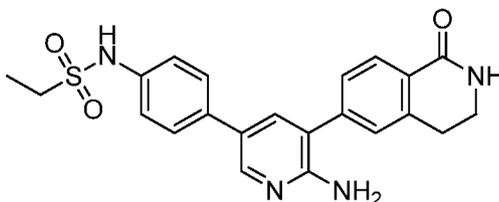


El método general C se aplicó a 6'-amino-5'-bromo-N-ciclopropil-[3,3'-bipiridina]-6-sulfonamida (650 mg, 1,76 mmol) y 6'-amino-5'-bromo-N-ciclopropil-[3,3'-bipiridina]-6-sulfonamida (410 mg, 2,11 mmol) para proporcionar 6'-amino-N-ciclopropil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[3,3'-bipiridina]-6-sulfonamida (130 mg, rendimiento del

16 %) después de la purificación por HPLC preparativa. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,11 (d, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 8,51 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,39 (dd, $J = 8,2, 2,1$ Hz, 1 H), 7,93 (s, 3 H), 7,86 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 7,46-7,56 (m, 2 H), 6,19 (s, 2 H), 3,36-3,46 (m, 2 H), 2,96 (t, $J = 6,4$ Hz, 2 H), 2,88 (s, 3 H), 2,23-2,31 (m, 1 H), 0,72-0,79 (m, 2 H), 0,62-0,69 (m, 2 H); MS (EI) $m/z = 450,5$ $[\text{M}+1]^+$.

5

6.25. Síntesis de N-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoguinolin-6-il)piridin-3-il)fenil)etanosulfonamida

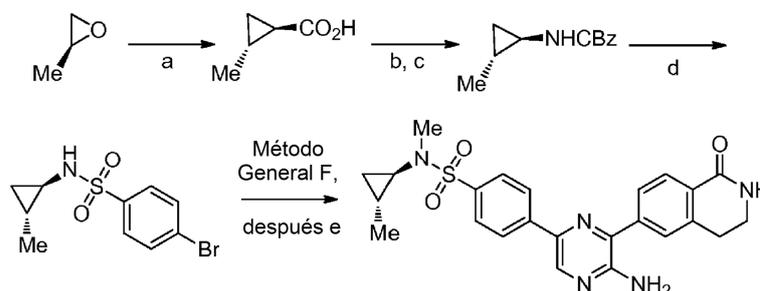


10 El método general B se aplicó a bromhidrato de 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoguinolin-1(2H)-ona (150 mg, 0,38 mmol) y ácido 4-(etilsulfonamida)fenilborónico (96 mg, 0,42 mmol) para dar N-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoguinolin-6-il)piridin-3-il)fenil)etanosulfonamida (58 mg, rendimiento del 35 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,79 (s, 1 H), 8,28 (d, $J = 2,51$ Hz, 1 H), 7,92 (d, $J = 8,03$ Hz, 2 H), 7,58-7,69 (m, 3 H), 7,44-7,53 (m, 2 H), 7,26 (d, $J = 8,78$ Hz, 2 H), 5,96 (s a, 2 H), 3,41 (td, $J = 6,53, 2,51$ Hz, 2 H), 3,16 (s, 2 H), 3,09 (c, $J = 7,28$ Hz, 2 H), 2,96 (t, $J = 6,40$ Hz, 2 H), 1,20 (t, $J = 7,28$ Hz, 3 H); MS (EI) $m/z: 422$ $[\text{M}+H]^+$. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeOH al 10-90 %:formiato de amonio 10 mM ac., gradiente de 2 min) $t_R = 1,94$ min, 97 % de área integrada.

15

20 6.26. Síntesis de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoguinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-metil-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)benzenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



25

en el que: a es 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo, n-BuLi, MeTHF, 150 °C después NaOH ac., 100 °C; b es TEA, EtCO_2Cl , acetona, después NaN_3 ac.; c es PhMe, 100 °C, después alcohol bencílico, CuCl, DMF; d es H_2 -Pd/C, DCM, después cloruro de TEA p-bromobenzenosulfonilo; e es Cs_2CO_3 , MeI, DMF.

30 A una solución a 0 °C de 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo (16,90 ml, 84,37 mmol) en metiltetrahidrofurano (150 ml) se le añadió n-BuLi (33,0 ml, 82,5 mmol, 2,5 M en hexano). La reacción se mantuvo a 0 °C durante 30 minutos antes de la adición de (S)-2-metiloxirano. Después, la mezcla de reacción se transfirió a un reactor de acero revestido de teflon, se cerró herméticamente y se calentó a 150 °C durante 18 h. El reactor se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua:NaOH ac. al 30 % (2:1) y se calentó a reflujo a 100 °C durante 5 h. La mezcla bifásica se enfrió de nuevo a temperatura ambiente y se transfirió a un embudo de decantación. Las capas se separaron y la fase acuosa se acidificó con HCl conc. ac. (100 ml) y se extrajo con acetato de isopropilo (3 x 200 ml) mientras se mantuvo la fase acuosa a pH ~3. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl al 10 % (2 x 100 ml), se filtraron sobre celite y se concentraron para proporcionar ácido (1R,2R)-2-metilciclopropanocarboxílico (7,9 g, rendimiento del 92%), que se usó directamente en la siguiente reacción. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 1,40-1,52 (m, 1 H), 1,30-1,39 (m, 1 H), 1,20-1,28 (m, 1 H), 1,13 (d, $J = 6,0$ Hz, 3 H), 0,76 (ddd, $J = 7,8, 6,5, 4,0$ Hz, 1 H).

35

40

45 A una solución a 0 °C de ácido (1R,2R)-2-metilciclopropanocarboxílico (2,0 g, 20,0 mmol) en acetona anhidra (100 ml) se le añadieron trietilamina (2,87 ml, 20,6 mmol) y cloroformato de etilo (1,96 ml, 20,6 ml). El baño frío se retiró y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 min antes de la adición de azida sódica (1,36 g, 21,00 mmol) en agua (20 ml). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 1 h, después se diluyó con DCM (300 ml) y agua (200 ml). Las capas se separaron y el producto orgánico se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), después se secó sobre MgSO_4 y se concentró para proporcionar (1R,2R)-2-

metilciclopropanocarbonil azida (1,8 g, rendimiento del 72 %) que se usó directamente en la siguiente reacción. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1,47-1,58 (m, 1 H), 1,35-1,42 (m, 1 H), 1,28-1,34 (m, 1 H), 1,14 (d, $J = 6,0$ Hz, 3 H), 0,79-0,87 (m, 1 H).

5 Una solución de (1R,2R)-2-metilciclopropanocarbonil azida (1,80 g, 14,4 mmol) en tolueno (100 ml) se calentó a 90 °C durante 1 h. Después de cese del desprendimiento de gas, la solución se canuló en un matraz que contenía una suspensión de alcohol bencílico (4,5 ml, 43,2 mmol) y cloruro de cobre (I) (750 mg, 7,5 mmol) en DMF (100 ml). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 1 h, después se diluyó con Et₂O (200 ml), después se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20-30 %/hexano) para proporcionar ((1R,2R)-2-metilciclopropil)-carbamato de bencilo (1,68 g, rendimiento del 57%). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,27-7,46 (m, 5 H), 5,11 (s a, 2 H), 4,80-4,99 (m, 1 H), 2,28 (d, $J = 3,0$ Hz, 1 H), 1,07 (d, $J = 5,5$ Hz, 3 H), 0,82-0,97 (m, 1 H), 0,67 (ddd, $J = 9,0, 5,3, 3,8$ Hz, 1 H), 0,51 (c, $J = 5,9$ Hz, 1 H).

15 Una solución de ((1R,2R)-2-metilciclopropil)carbamato de bencilo (1,68 g, 8,2 mmol) en DCM (55 ml) se cargó con Pd al 10 % en peso/C, después se desgasificó y se cargó con hidrógeno (50 psi). La reacción se completó después de 30 min y se filtró sobre celite, aclarando con DCM (15 ml). Las aguas madre se enfriaron a 0 °C, y se trataron con trietilamina (3,43 ml, 24,6 mmol) y cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo (2,20 g, 8,61 mmol). El baño frío se retiró y la reacción se agitó durante 1 h. Tras la finalización, la reacción se lavó con HCl ac. 0,5 M (2 x 20 ml) y salmuera (20 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró para proporcionar 4-bromo-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)bencenosulfonamida (2,06 g, rendimiento del 87 %). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,74-7,80 (m, 1 H), 7,66-7,72 (m, 2 H), 4,90 (s a, 1 H), 1,94 (dt, $J = 3,5, 1,8$ Hz, 1 H), 1,41 (t, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 0,89-1,01 (m, 3 H), 0,70-0,81 (m, 1 H), 0,35-0,45 (m, 1 H).

25 El procedimiento apropiado especificado en el método general F se aplicó a la conversión de 4-bromo-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)bencenosulfonamida (2,06 g, 7,1 mmol) en N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,38 g, rendimiento del 58 %) que se obtuvo después de la cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20-40 %/hexano). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,96 (s, 2 H), 7,85-7,92 (m, 2 H), 4,75-4,80 (m, 1 H), 1,88-1,93 (m, 1 H), 1,38 (s, 12 H), 1,27 (s, 1 H), 0,95 (d, $J = 1,3$ Hz, 3 H), 0,70-0,79 (m, 1 H), 0,33-0,40 (m, 1 H).

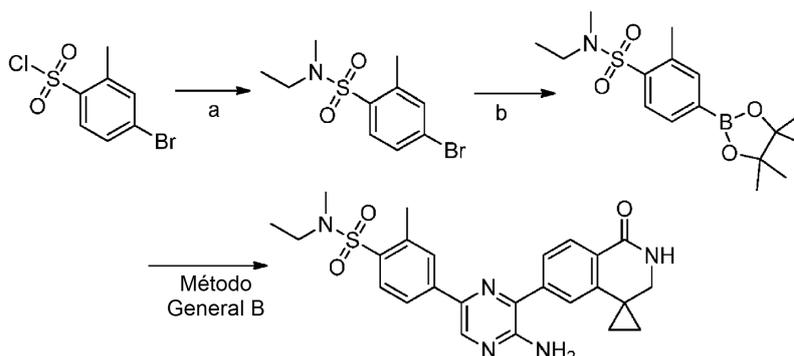
El procedimiento apropiado especificado en el método general F se aplicó a la conversión de N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (676 mg, 1,69 mmol) en clorhidrato de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)bencenosulfonamida después del tratamiento con HCl ac. (350 mg, rendimiento del 45%). ^1H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,34 (d, $J = 6,5$ Hz, 2 H), 8,11-8,16 (m, 1 H), 7,97-8,03 (m, 2 H), 7,89-7,96 (m, 2 H), 7,57-7,61 (m, 1 H), 7,54-7,56 (m, 1 H), 3,55-3,61 (m, 2 H), 3,07-3,14 (m, 2 H), 1,84-1,89 (m, 1 H), 0,92-0,97 (m, 3 H), 0,80-0,89 (m, 1 H), 0,64-0,70 (m, 1 H), 0,31-0,38 (m, 1 H); MS (EI) $m/z = 450,5$ [M+1]⁺.

40 A una suspensión a temperatura ambiente de clorhidrato de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)bencenosulfonamida (110 mg, 0,227 mmol) y carbonato de cesio (222 mg, 0,681 mmol) se le añadió yoduro de metilo (16,0 μ l, 0,251 mmol). Tras la finalización, la reacción se filtró y se concentró, después se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 5-10 %/DCM) para proporcionar 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-metil-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)-bencenosulfonamida (90 mg, rendimiento del 86%). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,55 (s, 1 H), 8,25 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 8,16 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,92 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,83 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 5,95 (s a, 1 H), 5,14 (s a, 2 H), 3,66 (dt, $J = 7,0, 2,3$ Hz, 2 H), 3,14 (t, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 2,76 (s, 3 H), 1,48-1,53 (m, 1 H), 1,27-1,35 (m, 1 H), 1,06 (d, $J = 6,3$ Hz, 3 H), 0,96-1,02 (m, 1 H), 0,47 (dd, $J = 12,3, 6,0$ Hz, 1 H); MS (EI) $m/z = 464,5$ [M+1]⁺.

50 6.27. Síntesis de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,2-dimetilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:

55

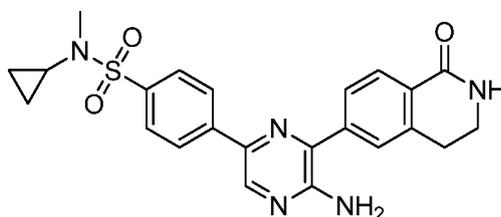


en el que: a es N-metiletilamina, CH_2Cl_2 , 20 °C, 2 h; b es $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$, $(\text{BPin})_2$, 85 °C, 2 h.

5 A una solución a 0 °C de cloruro de 4-bromo-2-metilbencenosulfonilo (1,00 g, 3,71 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) se le añadió N-etildiisopropilamina (0,71 ml, 4,31 mmol) y N-metiletilamina (0,96 ml, 11,13 mmol). El baño frío se retiró y la reacción se agitó durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se concentró, y el material en bruto se disolvió en CH_2Cl_2 (20 ml). La mezcla se lavó con HCl acuoso 0,5 N (3 x 10 ml), NaHCO_3 sat. ac. (2 x 10 ml), agua (10 ml), y NaCl acuoso saturado (5 ml), se secó (Na_2SO_4), y se concentró para dar 4-bromo-N-etil-2,N-dimetilbencenosulfonamida (0,91 g, 3,11 mmol, rendimiento del 85%). Este material se disolvió directamente en 1,4-dioxano (10 ml) y se trató con bisboro pinacol éster (0,87 g, 3,43 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-DCM}$ (69 mg, 0,093 mmol), y KOAc (0,92 g, 9,34 mmol). La reacción se calentó a 85 °C durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El material en bruto se trató con CH_2Cl_2 (30 ml) y agua (10 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 10 ml) y salmuera (5 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 5-20 %:hexano) para dar N-etil-2,N-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-bencenosulfonamida (0,64 g, rendimiento del 60%). ^1H RMN (300 MHz, MeOH) δ ppm 7,80-7,88 (m, 1 H), 7,68-7,77 (m, 2 H), 3,26 (c, $J = 7,12$ Hz, 2 H), 2,83 (s, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 1,37 (s, 12 H), 1,17 (t, $J = 7,15$ Hz, 3 H). MS (EI) m/z : 340 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %: NH_4OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) $t_R = 2,48$ min, 91% de área integrada.

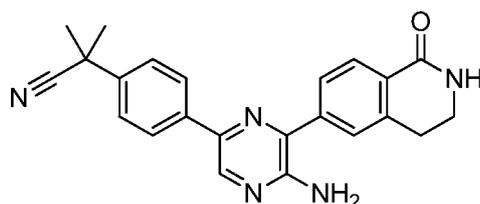
20 Una solución de N-etil-2,N-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-bencenosulfonamida (140 mg, 0,42 mmol), 6-(3-amino-6-bromopirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (150 mg, 0,38 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (13,2 mg, 0,011 mmol) y Na_2CO_3 ac. 2,0 M (0,38 ml) en n-butanol (2 ml) se calentó por microondas a 150 °C durante 10 min para proporcionar 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,2-dimetilbencenosulfonamida (49 mg, rendimiento del 29 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 8,69 (s, 1 H), 8,04 (s, 1 H), 7,93-8,02 (m, 3 H), 7,82 (d, $J = 8,28$ Hz, 1 H), 7,67-7,77 (m, 2 H), 6,62 (s, 2 H), 3,43 (td, $J = 6,40, 2,51$ Hz, 2 H), 3,18 (c, $J = 6,94$ Hz, 3 H), 3,00 (t, $J = 6,53$ Hz, 2 H), 2,76 (s, 3 H), 2,59 (s, 3 H), 1,08 (t, $J = 7,15$ Hz, 3 H). MS (EI) m/z : 452 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %: NH_4OAc ac. 10 mM, gradiente de 4 min) $t_R = 2,14$ min, 100 % de área integrada.

30 6.28. Síntesis de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida



35 El método general C se aplicó a 4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida (383 mg, 1,00 mmol) y 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (300 mg, 1,1 mmol) para proporcionar 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida (382 mg, rendimiento del 85%) después de la purificación por HPLC preparativa. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 8,73 (s, 1 H), 8,26 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 8,03 (s a, 1 H), 7,97 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 7,74 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 3,42 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 2,99 (t, $J = 6,4$ Hz, 2 H), 2,67 (s, 3 H), 1,77-1,86 (m, 1 H), 0,61-0,81 (m, 4 H); MS (EI) $m/z = 450,5$ $[\text{M}+1]^+$.

45 6.29. Síntesis de 2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)-2-metilpropanonitrilo



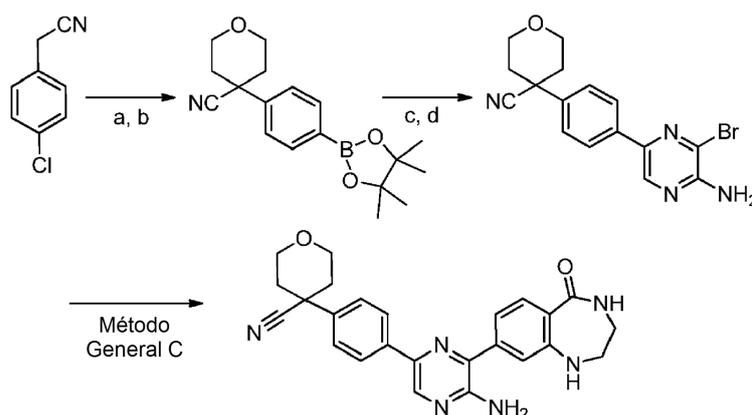
El método general B se aplicó a ácido 4-(2-cianopropan-2-il)fenilborónico (79 mg, 0,42 mmol) y 6-(3-amino-6-bromopirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (150 mg, 0,38 mmol) en n-butanol (2 ml) para dar 2-{4-[5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolin-6-yl)-pirazin-2-il]-fenil}-2-metil-propionitrilo (119 mg, rendimiento del 82 %) después de la purificación por cromatografía en columna sobre sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/DCM).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,59 (s, 1 H), 8,02 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 7,96 (d, *J* = 8,03 Hz, 2 H), 7,75 (dd, *J* = 8,03, 1,25 Hz, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 7,58 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 6,45 (s, 2 H), 3,43 (td, *J* = 6,40, 2,51 Hz, 2 H), 2,99 (t, *J* = 6,40 Hz, 2 H), 1,71 (s, 6 H). MS (EI) *m/z*: 384 [M+H]⁺. HPLC (Shim-Pack VP ODS 4,6 mm x 50 mm, MeOH al 10-90 %-95 %, agua al 5 % con TFA al 0,1 %, gradiente de 4 min) *t*_R = 3,22 min, 99 % de área integrada.

6.30. Método general G y síntesis de 4-(5-amino-6-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-7-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida

15

El compuesto del título se preparó mediante el método general G, representado a continuación:



20 en el que: a es NaH, (TfO)₂NPh, THF; y b es diboro pinacol éster, Pd(dppf)Cl₂, KOAc, dioxano, 90 °C.

A una solución a temperatura ambiente de 7-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-1-ona (2,3 g, 12,9 mmol) en THF (100 ml) se le añadió NaH (671 mg, 16,7 mmol), seguido de 1,1,1-trifluoro-N-fenil-N-((trifluorometil)sulfonyl)metanosulfonamida (5,98 g, 16,77 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, después se interrumpió con NH₄Cl sat. ac. y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20 %/hexano) para proporcionar 1-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-7-il trifluorometanosulfonato (12,9 mmol, rendimiento del 77 %) MS (EI) *m/z* = 310 [M+1]⁺.

30

Una suspensión desgasificada de 1-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-7-il trifluorometanosulfonato (4,0 g, 12,9 mmol) diboro pinacol éster (9,9 g, 39,0 mmol), KOAc (1,9 g, 19,5 mmol), y Pd(dppf)Cl₂ (963 mg, 1,3 mmol) en dioxano (8 ml) se calentó a 90 °C durante 1,5 h. Tras la finalización, la reacción se filtró, se concentró, y después se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 30 %/hexanos) para proporcionar. 7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-1-ona (1,5 g, rendimiento del 41%). MS (EI) *m/z* = 288 [M+1]⁺.

35

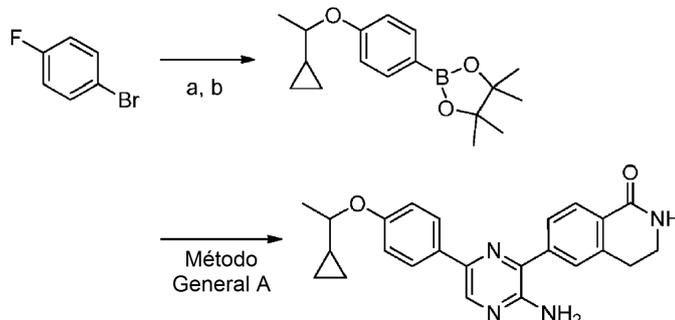
El método general C se aplicó a 7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-1-ona (95 mg, 0,33 mmol) y 4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida (108 mg, 0,29 mmol) para proporcionar 4-(5-amino-6-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[c]azepin-7-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida (33 mg, rendimiento del 22 %) después de la purificación por HPLC preparativa, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,70 (s, 1 H), 8,22 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 8,12 (t, *J* = 5,8 Hz, 1 H), 7,80 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 7,71 (dd, *J* = 8,0, 1,5 Hz, 1 H), 7,62-7,66 (m, 2 H), 6,66 (s, 2 H), 2,93-3,09 (m, 4 H), 2,83 (t, *J* = 1,0 Hz, 2 H), 2,67 (s, 3 H), 1,94 (dd, *J* = 12,3, 6,0 Hz, 2 H), 1,03 (t, *J* = 7,2 Hz, 3 H); MS (EI) *m/z* = 452,5 [M+1]⁺.

40

6.31. Síntesis de 6-(3-amino-6-(4-(1-ciclopropiletoxi)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:

5



en el que: a es NaH, 1-ciclopropiletanol, DMF, 100 °C; b es Pd(dppf)Cl₂, (BPin)₂, KOAc, 90 °C, 2 horas.

10 A una suspensión a 0 °C de NaH (460 mg, 11,4 mmol, dispersión al 60 % en peso en aceite mineral) en DMF (14 ml) se le añadió gota a gota 1-ciclopropiletanol (0,79 ml, 7,41 mmol). El baño frío se retiró durante 30 min antes de la adición de 1-bromo-4-fluorobenceno (1,00 g, 5,7 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C durante 3 h. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El aceite resultante se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo en EtOAc (3 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para proporcionar 1-bromo-4-(1-ciclopropiletoxi)benzene (1,30 g, rendimiento del 95%). El aceite resultante se usó directamente sin purificación adicional.

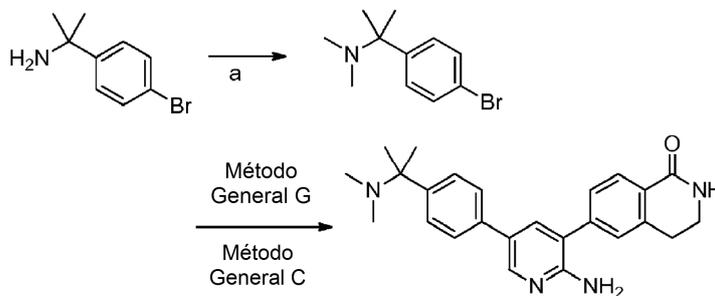
20 Una suspensión de 1-bromo-4-(1-ciclopropiletoxi)benzene (1,30 g, 5,39 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,77 g, 7,01 mmol), PdCl₂dppf-DCM (197 mg, 0,27 mmol), KOAc (1,06 g, 10,78 mmol) en DMF (12 ml) se calentó a 100 °C durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se concentró, y después se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20-40 %/hexano) para proporcionar 2-(4-(1-ciclopropiletoxi)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (1,38 g, rendimiento del 88%).

25 El método general A se aplicó a 2-(4-(1-ciclopropiletoxi)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (639 mg, 2,00 mmol), proporcionando 6-(3-amino-6-(4-(1-ciclopropiletoxi)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (321 mg, rendimiento del 40 %) después de la purificación por HPLC preparativa de fase inversa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,50 (s, 1 H), 8,00 (s a, 1 H), 7,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,88 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H), 7,72-7,77 (m, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 6,97 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H), 6,30 (s, 2 H), 3,94-4,04 (m, 1 H), 3,42 (td, *J* = 6,4, 2,5 Hz, 2 H), 2,99 (t, *J* = 6,5 Hz, 2 H), 1,29 (d, *J* = 6,0 Hz, 3 H), 1,09 (dt, *J* = 8,0, 4,9 Hz, 1 H), 0,43-0,53 (m, 2 H), 0,25-0,39 (m, 2 H); MS (EI) *m/z* = 401,5 [M+1]⁺.

30

6.32. Síntesis de 6-(2-amino-5-(4-(2-(dimetilamino)propan-2-il)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona

35 El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



40 A una solución de 2-(4-bromofenil)propan-2-amina (500 mg, 2,34 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron formaldehído acuoso al 37 % (525 µl, 7,0 mmol), Na₂SO₄ (100 mg) y STAB (2,98 g, 14,0 mmol). Después de agitar 2 h a temperatura ambiente, la reacción se repartió entre NaHCO₃ sat. ac. (20 ml) y DCM (20 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 2-(4-bromofenil)-N,N-dimetilpropan-2-amina (464 mg,

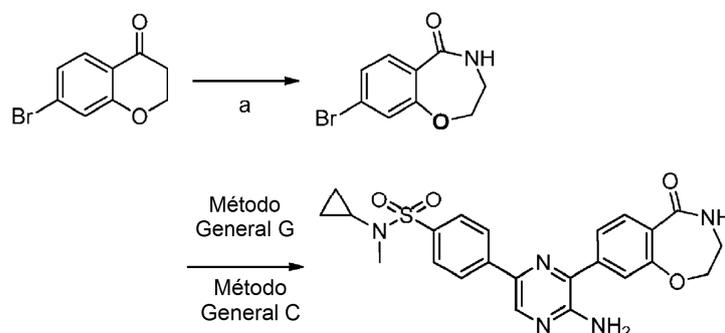
rendimiento del 82 %) en forma de un aceite de color amarillo. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,45 (d, J = 6,0 Hz, 4 H), 2,16 (s, 6 H), 1,40 (s, 6 H); MS (EI) m/z = 243,2 $[\text{M}+1]^+$.

5 El método general G se aplicó a 2-(4-bromofenil)- N,N -dimetilpropan-2-amina (450 mg, 1,86 mmol), para proporcionar N,N -dimetil-2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propan-2-amina (300 mg, rendimiento del 56 %) después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc al 50-100 %/hexanos). MS (EI) m/z = 290,2 $[\text{M}+1]^+$.

10 El método general C se aplicó a N,N -dimetil-2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propan-2-amina (109 mg, 0,38 mmol) y bromhidrato de 6-(2-amino-5-bromopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (125 mg, 0,31 mmol) para proporcionar 6-(2-amino-5-(4-(2-(dimetilamino)propan-2-il)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (14 mg, rendimiento del 11 %) en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,32 (s, 1 H), 7,81-8,11 (m, 2 H), 7,37-7,79 (m, 7 H), 5,87 (s, 2 H), 3,41 (m, 2H), 2,85-3,10 (m, 2 H), 2,11 (s, 6 H), 1,30 (s, 6 H); MS (EI) m/z = 401,5 $[\text{M}+1]^+$.

15 6.33. Síntesis de 4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahydrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)pirazin-2-il)- N -ciclopropil- N -metilbencenosulfonamida

20 El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:

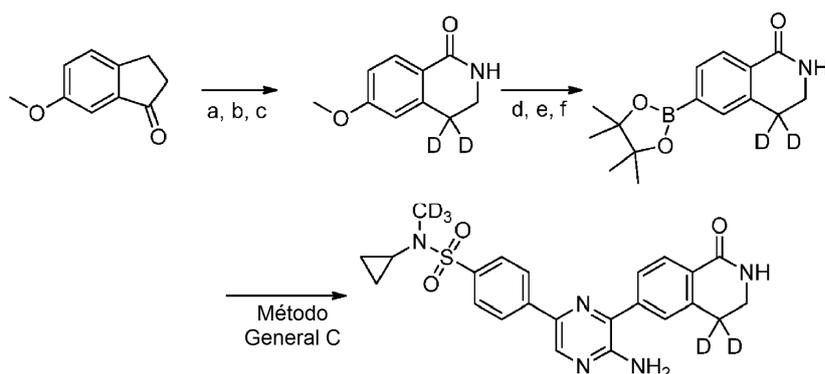


25 Una solución de 7-bromocroman-4-ona (340 mg, 1,5 mmol) y ácido metanosulfónico (3 ml, 23,0 mmol) en DCM se enfrió a 0 °C y se trató en porciones con NaN_3 (146 mg, 2,25 mmol), mientras se mantuvo la temperatura interna por debajo de 5 °C. Después, la reacción se agitó a 0 °C durante 4 h. Tras la finalización, la reacción se neutralizó lentamente con NaOH ac. 8 N, después se diluyó con DCM (20 ml) y agua (20 ml). Las capas se separaron y los productos orgánicos se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron para proporcionar 8-bromo-3,4-dihidrobenzo[f][1,4]oxazepin-5(2H)-ona (370 mg, rendimiento del 100 %). MS (EI) m/z = 242,1 $[\text{M}+1]^+$.

30 Los métodos generales G y C se aplicaron sucesivamente a 8-bromo-3,4-dihidrobenzo[f][1,4]oxazepin-5(2H)-ona (370 mg, 1,5 mmol) para proporcionar 4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)- N -ciclopropil- N -metilbencenosulfonamida (241 mg, rendimiento del 41 %, 2 etapas) después de la purificación de la mezcla de reacción en bruto sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-10 %/DCM). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,72 (s, 1 H), 8,43 (dd, J = 10,3, 4,8 Hz, 1 H), 8,26 (d, J = 8,8 Hz, 2 H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,85 (d, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,54 (dd, J = 8,0, 1,8 Hz, 1 H), 7,41 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 4,31-4,40 (m, 2 H), 3,56 (s, 3 H), 3,33-3,43 (m, 1 H), 2,47-2,52 (m, 2 H), 0,65-0,79 (m, 4 H); MS (EI) m/z = 466,5 $[\text{M}+1]^+$.

40 6.34. Síntesis de 4-(5-amino-6-(1-oxo-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-6-il)pirazin-2-il)- N -ciclopropil- N -Trideuterometilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



en el que: a es LiAlD_4 , AlCl_3 , MeOH; b es CrO_3 , HOAc, H_2O ; c es NaN_3 , MeSO_3H , DCM; d es BBr_3 , DCM; e es PhNTf_2 , NaH, THF; y f es $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, $(\text{Bpin})_2$, KOAc, dioxano.

5

AlCl_3 (4,9 g, 36,7 mmol) y LiAlD_4 (770 mg, 18,4 mmol) se suspendieron en Et_2O anhidro (50 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente 6-metoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona (744 mg, 4,59 mmol) a la suspensión agitada. La reacción se retiró del baño de refrigeración y se agitó durante una noche mientras se calentó gradualmente a temperatura ambiente. Tras la finalización, la reacción se interrumpió secuencialmente mediante la adición de agua (5,6 ml), KOH ac. al 15 % (5,6 ml), y agua (16,8 ml). Se añadió Na_2SO_4 y la mezcla se filtró. Los extractos orgánicos se concentraron y después se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 30 %/hexanos) para proporcionar 5-metoxi-3,3-dideutero-2-hidro-1H-indeno en forma de un aceite transparente (500 mg, rendimiento del 73 %) ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,38 (dd, $J = 9,00$ Hz, 1 H), 7,18-7,22 (m, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 3,06-3,11 (m, 2 H), 2,71-2,75 (m, 2 H).

10

15

Se disolvió 5-metoxi-3,3-dideutero-2-hidro-1H-indeno (500 mg, 3,33 mmol) en ácido acético (10 ml) y se añadió lentamente una solución de CrO_3 (1,33 g, 13,32 mmol) en ácido acético ac. al 50 % (10 ml). La reacción se agitó a 50 °C durante 0,5 h, después se enfrió a 0 °C y se interrumpió con isopropanol (3 ml). La mezcla de reacción se repartió entre NaOH 0,25 N ac. (50 ml) y EtOAc (50 ml). Las capas se separaron y los productos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron para proporcionar 5-metoxi-3,3-dideutero-2-dihidro-inden-1-ona (545 mg, rendimiento del 100%). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,70 (s a, 1 H), 6,91 (s a, 2 H), 3,89 (s a, 3 H), 2,67 (s a, 2 H); MS (EI) $m/z = 165,4$ [$\text{M}+1$] $^+$.

20

25

Se añadió ácido metanosulfónico (1,0 ml, 15,4 mmol) a una solución de 5-metoxi-3,3-dideutero-2-dihidro-inden-1-ona (600 mg, 3,65 mmol) en DCM (40 ml), y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente en porciones azida sódica (356 mg, 5,48 mmol) a la solución agitada. Después de 6 h a 0 °C, la reacción se interrumpió con NaOH ac. 8 N (20 ml). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar 6-metoxi-4,4-dideutero-3-hidroisoquinolin-1(2H)-ona (500 mg, rendimiento del 76%). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,99 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H), 6,88 (dd, $J = 8,78$, 2,51 Hz, 1 H), 6,74 (d, $J = 2,51$ Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,60 (s, 2 H); MS (EI) $m/z = 180,4$ [$\text{M}+1$] $^+$.

30

35

A una solución a -78 °C de 6-metoxi-4,4-dideutero-3-hidroisoquinolin-1(2H)-ona (2,9 g, 16,2 mmol) en DCM (150 ml) se le añadió una solución 1,0 M recién preparada de BBr_3 en DCM (32,4 ml, 32,4 mmol). La reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente durante una noche. Tras la finalización, la reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó cuidadosamente con MeOH (10 ml), después se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 10 %/DCM) para proporcionar 6-hidroxi-4,4-dideutero-3-hidroisoquinolin-1(2H)-ona en forma de un sólido de color naranja brillante (2,33 g, rendimiento del 86%). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,66 (d, $J = 8,53$ Hz, 1 H), 7,60 (s a, 1 H), 6,68 (dd, $J = 8,53$, 2,51 Hz, 1 H), 6,61 (d, $J = 2,26$ Hz, 1 H); MS (EI) $m/z = 166,4$ [$\text{M}+1$] $^+$.

40

45

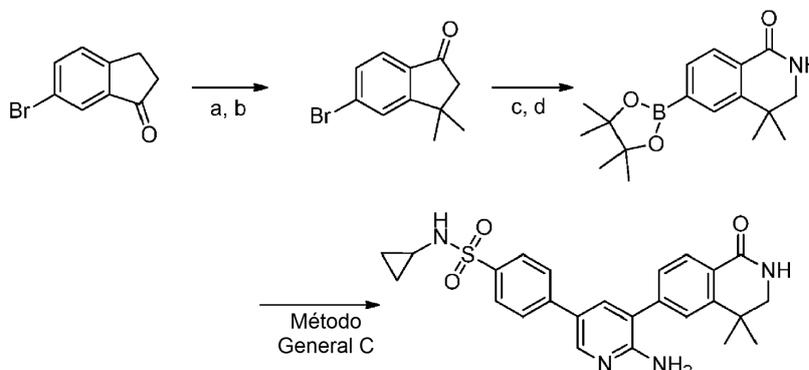
Una solución a temperatura ambiente de 6-hidroxi-4,4-dideutero-3-hidroisoquinolin-1(2H)-ona (2,75 g, 16,2 mmol) en THF (150 ml) se trató con NaH (1,62 g de dispersión al 60 % en peso en aceite mineral, 40,5 mmol). La reacción se agitó durante 0,5 h, después se trató con PhNTf_2 (17,36 g, 48,6 mmol) y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se interrumpió con NH_4Cl sat. ac. (50 ml), después se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), después se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-10 %/DCM) para proporcionar trifluorometanosulfonato de 1-oxo-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-6-il (3,31 g, rendimiento del 69 %) en forma de un sólido de color ligeramente rojo. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,14 (s a, 1 H), 7,99 (d, $J = 8,53$ Hz, 1 H), 7,52 (d, $J = 2,51$ Hz, 1 H), 7,45 (dd, $J = 8,66$, 2,64 Hz, 1 H), 3,38 (d, $J = 2,76$ Hz, 2 H); MS (EI) $m/z = 298,2$ [$\text{M}+1$] $^+$.

50

Una suspensión de trifluorometanosulfonato de 1-oxo-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-6-il (3,30 g, 11,1 mmol) diboro pinacol éster (8,45 g, 33,3 mmol), KOAc (1,63 g, 16,7 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (814 mg, 1,1 mmol) en dioxano (50 ml) se desgasificó y después se calentó a 90 °C durante 1,5 h. Tras la finalización, la reacción se filtró, se concentró, después se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 30 %/hexanos) para proporcionar 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-1(2H)-ona (2,2 g, rendimiento del 72%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,99 (s a, 1 H), 7,80 (dd, *J* = 1,00 Hz, 1 H), 7,61 (dd, *J* = 7,78, 5,77 Hz, 2 H), 7,59 (dd, *J* = 14,00 Hz, 2 H), 3,34 (d, *J* = 2,26 Hz, 2 H), 1,29 (s, 12 H); MS (EI) *m/z* = 276,4 [M+1]⁺. El método C se aplicó a 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-1(2H)-ona (1,14 g, 4,15 mmol) y 3,5-dibromopirazin-2-amina (1,0 g, 3,95 mmol). Tras la finalización, la mezcla de reacción en bruto se filtró y después se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 5-10 %/DCM) para proporcionar 4-(5-amino-6-(1-oxo-3-hidro-4,4-dideutero-isoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-Trideuterometilbencenosulfonamida (435 mg, rendimiento del 23%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,72 (s, 1 H), 8,26 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 8,02 (s a, 1 H), 7,97 (d, *J* = 8,03 Hz, 1 H), 7,84 (d, *J* = 8,53 Hz, 2 H), 7,74 (dd, *J* = 8,03, 1,76 Hz, 1 H), 7,70 (d, *J* = 1,51 Hz, 1 H), 3,41 (d, *J* = 2,51 Hz, 2 H), 1,78-1,86 (m, 1 H), 0,72-0,79 (m, 2 H), 0,64-0,72 (m, 2 H); MS (EI) *m/z* = 455,1[M+1]⁺.

6.35. Síntesis de 4-(6-amino-5-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida

20 El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



25 en el que: a es TiCl₄, ZnMe₂, DCM; b es CrO₃, HOAc; c es NaN₃, MsOH, DCM; d es (Bpin)₂, Pd(dppf)Cl₂, KOAc, dioxano.

Una solución 1,0 M de TiCl₄ en DCM (50 ml, 49,8 mmol) se añadió a un recipiente de reacción que contenía DCM (40 ml) enfriado a -40 °C. Después, una solución 2,0 M de dimetil cinc en tolueno (35,5 ml, 71,1 mmol) se añadió lentamente y la solución se agitó durante 20 minutos a -40 °C. A esta mezcla se le añadió una solución de 6-bromo-2,3-dihidro-1H-indeno[1,2-b]piridin-3-ona (5,0 g, 23,7 mmol) en DCM (40 ml) y la reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente durante una noche. Tras la finalización, la reacción se enfrió a 0 °C y se interrumpió con MeOH (10 ml), después se diluyó con agua (50 ml) y DCM (50 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. Se aisló 6-bromo-1,1-dimetil-2,3-dihidro-1H-indeno[1,2-b]piridin-3-ona (4,14 g, rendimiento del 78 %) en forma de un aceite transparente después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de hexano). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,22-7,33 (m, 2 H), 7,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 1 H), 2,86 (t, *J* = 7,3 Hz, 2 H), 1,95 (t, *J* = 7,3 Hz, 2 H), 1,28 (s, 6 H); MS (EI) *m/z* = 226,2 [M+1]⁺.

A una solución de 6-bromo-1,1-dimetil-2,3-dihidro-1H-indeno[1,2-b]piridin-3-ona (3,6 g, 16 mmol) en ácido acético (50 ml) se le añadió a una solución de CrO₃ (9,6 g, 96,0 mmol) en ácido acético acuoso al 50% (50 ml). Esta solución se calentó durante 3 h a 60 °C. Tras la finalización, la mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de isopropanol (20 ml). La reacción interrumpida se repartió entre EtOAc (200 ml) y NaOH acuoso 0,25 M (100 ml). Las capas se separaron y los productos orgánicos se extrajeron con EtOAc (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. Después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 50 %/hexanos), se aisló 5-bromo-3,3-dimetil-2,3-dihidro-1H-indeno[1,2-b]piridin-3-ona (2,91 g, rendimiento del 76 %) en forma de un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,65 (s, 1 H), 7,47-7,58 (m, 2 H), 2,58 (s, 2 H), 1,42 (s, 6 H); MS (EI) *m/z* = 240,1 [M+1]⁺.

Se disolvió 5-bromo-3,3-dimetil-2,3-dihidro-1H-indeno[1,2-b]piridin-3-ona (1,6 g, 6,7 mmol) en DCM (12 ml) y se enfrió a 0 °C. Después, se añadió MeSO₃H (1,83 ml, 28,1 mmol) seguido de la adición en porciones de NaN₃ (653 mg, 10,1 mmol) durante ~10 min, mientras se mantuvo la temperatura interna de la reacción por debajo de 5 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó 3 h en una atmósfera de nitrógeno. Tras la finalización, la reacción se

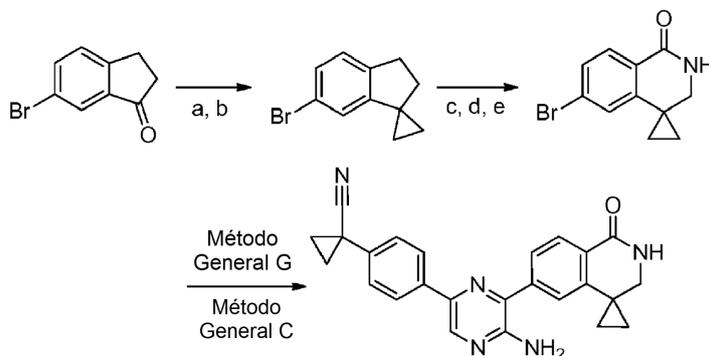
enfrío a 0 °C y se interrumpió con NaOH 8 M ac. Después de agitar 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción interrumpida se repartió entre DCM (50 ml) y agua (50 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. Se aisló 6-bromo-4,4-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (711 mg, rendimiento del 40 %) en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo en EtOAc al 50-100 %/hexano). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,02 (s, 1 H), 7,77 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,46-7,64 (m, 2 H), 3,16 (d, *J* = 3,0 Hz, 2 H), 1,27 (s, 6 H); MS (EI) *m/z* = 255,1 [M+1]⁺.

Una solución de 6-bromo-4,4-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (500 mg, 1,97 mmol), diboro pinacol éster (752 mg, 2,96 mmol), KOAc (773 mg, 7,88 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (43 mg, 0,06 mmol) en dioxano (7 ml) se calentó durante 2 horas a 100 °C a reflujo. Tras la finalización, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, (eluyente de DCM al 2-5 %/MeOH). Las fracciones que contenían el producto se concentraron, se recogieron en hexanos, se sonicaron y se filtraron para proporcionar 4,4-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (511 mg, rendimiento del 86 %) en forma de un sólido de color blanco. ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,09 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,71-7,87 (m, 2 H), 3,33 (d, *J* = 3,1 Hz, 2 H), 1,39 (m, *J* = 8,0 Hz, 18 H); MS (EI) *m/z* = 302,2 [M+1]⁺.

El método general C se aplicó a bromhidrato de 4-(6-amino-5-bromopiridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (92 mg, 0,25 mmol) y 4,4-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (75 mg, 0,25 mmol) para dar 4-(6-amino-5-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (43 mg, rendimiento del 37 %) en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/DCM). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,61 (s, 1 H), 8,06 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 7,96-8,02 (m, 2 H), 7,80 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 7,75 (dd, *J* = 7,5, 1,5 Hz, 1 H), 7,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 6,00 (s, 2 H), 3,20 (d, *J* = 2,0 Hz, 2 H), 2,06-2,18 (m, 1 H), 1,33 (s, 6 H), 0,33-0,55 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 463,6 [M+1]⁺.

6.36. Síntesis de 1-(4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin-6'-il])pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



en el que: a es Me₃SBr, *n*-BuLi, THF, 0 °C; b es Et₂Zn, TFA, CH₂l₂, DCM, 0 °C; c es KMnO₄, 1,5 M ac. MgSO₄, acetona; d es HONH₂-HCl, NaOAc, THF, después MsOH, TEA, THF; y e es BF₃·MeOH, DCM, después TiCl₄.

Una solución 2,5 M de *n*-BuLi en hexanos (23,6 ml, 59 mmol) se añadió gota a gota a una suspensión de 0 °C de bromuro de metiltrifenilfosfonio (16,8 g, 47,0 mmol) en THF (200 ml). Después de 1 h, se añadió una solución de 6-bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona (10,0 g, 47,0 mmol) en THF (50 ml) a la solución resultante y el baño frío de reacción se retiró. Después de que se completara, la reacción se interrumpió con agua (40 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 40 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 6-bromo-1-metileno-2,3-dihidro-1H-indeno (6,06 g, rendimiento del 62 %) en forma de un aceite transparente después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente hexano). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,61 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 7,32 (dd, *J* = 8,0, 1,8 Hz, 1 H), 7,13 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 5,45 (t, *J* = 2,5 Hz, 1 H), 5,08 (t, *J* = 2,1 Hz, 1 H), 2,88-2,98 (m, 2 H), 2,78-2,86 (m, 2 H); MS (EI) *m/z* = 210,1 [M+1]⁺.

Una solución 1,1 M de tolueno de dietil cinc (104,0 ml, 114,8 mmol) se añadió en un recipiente de reacción que contenía DCM (100 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió TFA (8,9 ml, 114,8 mmol) a la solución resultante y la reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. A la solución enfriada se le añadió CH₂l₂ (9,26 ml, 114,8 mmol), y la reacción se agitó durante 15 minutos más a 0 °C. Después, se añadió una solución de 6-bromo-1-metileno-2,3-dihidro-1H-indeno (6,0 g, 28,7 mmol) en DCM (90 ml) y la reacción se mantuvo 0 °C durante 15 min más, y después se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente. Después de que se completara, la reacción se interrumpió con NH₄Cl sat. ac.

(100 ml) y se diluyó con DCM (200 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con DCM (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, después se filtraron y se concentraron. Se obtuvo 6'-bromo-2',3'-dihidrospiro[ciclopropano-1,1'-indeno] (5,9 g, rendimiento del 93%) después de la purificación por cromatografía ultrarrápida (eluyente de hexanos) en forma de un aceite transparente.

5 ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,22 (dd, *J* = 7,9, 1,9 Hz, 1 H), 7,05 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 6,78 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 2,99 (t, *J* = 7,5 Hz, 2 H), 2,06-2,20 (t, 2 H), 0,83-1,03 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 224,1 [M+1]⁺.

A una solución de 6'-bromo-2',3'-dihidrospiro[ciclopropano-1,1'-indeno] (5,7 g, 25,6 mmol) en acetona (78 ml) y 1,5 M ac. MgSO₄ (29 ml) se le añadió KMnO₄ (4,46 g, 28,2 mmol). La reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después de que se completara, la reacción se filtró sobre celite y se concentró. El residuo se repartió entre agua (100 ml) y EtOAc (200 ml), y las capas se separaron. El producto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, después se filtró y se concentró. Se aisló 6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona (2,11 g, rendimiento del 39 %) en forma de un sólido de color blanco después de la cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 5 %/hexano).

10 ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,59 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 7,45 (dd, *J* = 8,0, 1,5 Hz, 1 H), 7,14 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 2,76 (s, 2 H), 1,15-1,34 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 238,1 [M+1]⁺.

Una solución de 6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona (2,1 g, 8,86 mmol), hidroxilamina HCl (1,23 g, 17,7 mmol) y NaOAc (4,32 g, 53,1 mmol) en MeOH (160 ml) se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La reacción se concentró, se suspendió en agua (40 ml), después se sonicó y se filtró. El precipitado se secó a alto vacío para dar (E)-6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona oxima (2,23 g, rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color blanco. MS (EI) *m/z* = 253,1[M+1]⁺.

20

A una solución a 0 °C de (E)-6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona oxima (500 mg, 1,98 mmol) en THF (5 ml) se le añadió trietilamina (332 μl, 2,38 mmol) seguido de una adición lenta de MsCl (170 μl, 2,18 mmol). La reacción se agitó 10 minutos a 0 °C y después se concentró. El residuo se trituró en metanol (5 ml) para proporcionar (E)-6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona O-metilsulfonyl oxima (653 mg, rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color blanco después de secado a alto vacío.

25 ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,64 (d, *J* = 8,4 Hz, 1 H), 7,42 (dd, *J* = 8,3, 1,6 Hz, 1 H), 6,98 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 3,26 (s, 3 H), 3,15 (s, 2 H), 1,06-1,42 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 331,2 [M+1]⁺.

30

Una solución de (E)-6'-bromospiro[ciclopropano-1,1'-indeno]-3'(2'H)-ona-O-metilsulfonyl oxima (653 mg, 1,98 mmol) en DCM (10 ml) se enfrió a 0°C. Se añadió BF₃·MeOH (362 μl, 4,36 mmol) a la solución enfriada, seguido de la adición lenta de TiCl₄ (304 μl, 2,77 mmol) y la reacción se mantuvo a 0°C durante 4 h. Tras la finalización, la reacción se interrumpió con agua (10 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con DCM (2 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. Se aisló 6'-bromo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-1'-ona (228 mg, 0,90 mmol, rendimiento del 46 %) en forma de un sólido de color blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida (eluyente de EtOAc al 50-100 %/hexano).

35 ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,98 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 7,46 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1 H), 7,01 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 5,94 (s, 1 H), 3,37 (d, *J* = 2,8 Hz, 3 H), 0,94-1,20 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 253,1 [M+1]⁺.

40

El método general G se aplicó a 6'-bromo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-1'-ona (228 mg, 0,90 mmol) para proporcionar después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc al 50-100 %/hexanos), 6'-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-1'-ona (199 mg, rendimiento del 74 %) en forma de un sólido de color blanco.

45 ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,12 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,77 (dd, *J* = 7,6, 1,0 Hz, 1 H), 7,30 (s, 1 H), 3,37 (d, *J* = 2,3 Hz, 2 H), 1,36 (s, 12 H), 0,94-1,22 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 300,2[M+1]⁺.

El método general C se aplicó a 1-(4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo (95 mg, 0,30 mmol) y 6'-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2',3'-dihidro-1'H-espiro[[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]1'-ona (100 mg, 0,33 mmol) para proporcionar 1-(4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo (44 mg, rendimiento del 36 %) después de la cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/DCM), ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,76-1,07 (m, 4 H) 1,08-1,35 (m, 4 H) 1,44-1,63 (m, 2 H) 1,65-1,86 (m, 2 H) 6,37 (s, 1 H) 7,10-7,51 (m, 3 H) 7,68 (d, *J* = 7,78 Hz, 1 H) 7,83-8,28 (m, 4 H) 8,57 (s, 1 H). MS (EI) *m/z*: 408 [M+H]⁺. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %:NH₄OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) t_R = 1,69 min, 100 % de área integrada.

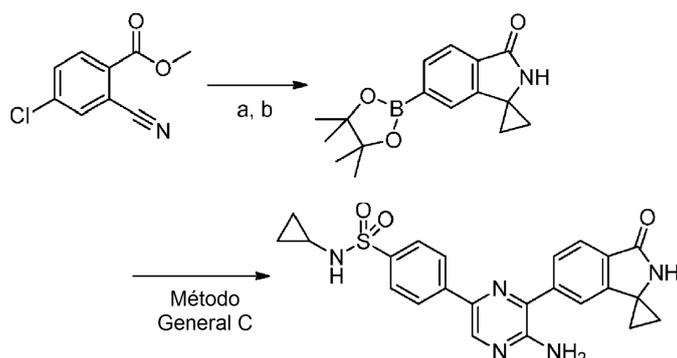
50

55

6.37. Síntesis de 4-(5-amino-6-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoidolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida

60

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



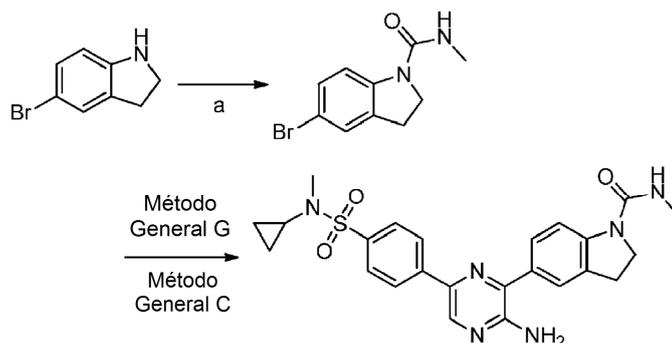
en el que: a es $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$, EtMgBr , Et_2O ; y b es $(\text{Bpin})_2$, $\text{Pd}(\text{dba})_3$, $\text{P}(\text{Cy})_3$, dioxano.

- 5 A una solución de 4-cloro-2-cianobenzoato de metilo (2,0 g, 10,2 mmol) en Et_2O (40 ml) se le añadió $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ (3,43 ml, 11,7 mmol). Después de enfriar a 0°C , se añadió lentamente una solución 3,0 M de EtMgBr en Et_2O (6,8 ml, 20,4 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Después de que se completara, la reacción se interrumpió con HCl 1,0 M (20 ml) y después se filtró sobre celite. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con EtOAc (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , después se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/ DCM) para proporcionar 6'-clorospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-3'-ona (400 mg, rendimiento del 21 %) en forma de un sólido de color amarillo. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,75 (s, 1 H), 7,66 (d, $J = 8,5$ Hz, 1 H), 7,40-7,54 (m, 2 H), 1,47 (dt, $J = 11,2, 2,8$ Hz, 4 H); MS m/z $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{ClNO}$ $[\text{M}+1]^+ = 194,6$.
- 10
- 15 Una solución de 6'-clorospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-3'-ona (380 mg, 1,96 mmol), bis(pinacolato)diboro (808 mg, 3,18 mmol), KOAc (677 mg, 6,9 mmol), $\text{P}(\text{Cy})_3$ (137 mg, 0,49 mmol) y $\text{Pd}(\text{dba})_3$ (180 mg, 0,20 mmol) en dioxano (8 ml) se calentó durante una noche a 100°C en un condensador a reflujo. Tras la finalización, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó en DCM (40 ml), se sonicó y se filtró. El filtrado se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 50/100 %/ hexano). Las fracciones que contenían el producto se recogieron en hexanos, después se sonicaron y se filtraron para proporcionar 6'-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)espiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-3'-ona (520 mg, rendimiento del 93 %) en forma de un sólido de color amarillo. ^1H RMN (400 MHz, $\text{METANOL}-d_4$) δ ppm 7,70-7,91 (m, 2 H), 7,56 (s, 1 H), 1,46-1,68 (m, 4 H), 1,15-1,43 (m, 12 H); MS (EI) $m/z = 286,1$ $[\text{M}+1]^+$.
- 20
- 25 El método general B se aplicó a 4-(5-amino-6-bromo-pirazin-2-il)-N-ciclopropil-bencenosulfonamida (140 mg, 0,38 mmol) y 6'-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)espiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]3'-ona (120 mg, 0,42 mmol) para proporcionar 4-(5-amino-6-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (58 mg, rendimiento del 34 %) después de la purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 2-5 %/ DCM). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,29-0,58 (m, 4 H) 1,36-1,68 (m, 4 H) 2,13 (d, $J = 2,51$ Hz, 1 H) 6,62 (s, 1 H) 7,62 (s, 1 H) 7,74-7,96 (m, 5 H) 8,21 (d, $J = 8,53$ Hz, 2 H) 8,70 (s, 1 H) 8,75 (s, 1 H) 8,96-9,32 (m, 1 H). MS (EI) $m/z: 448$ $[\text{M}+H]^+$. HPLC (Sunfire C18 4,6 mm x 50 mm, MeCN al 10-90 %: NH_4OAc ac. 10 mM, gradiente de 2 min) $t_R = 1,47$ min, 97% de área integrada.
- 30

6.38. Síntesis de 5-(3-amino-6-(4-(N-ciclopropil-N-metilsulfamoil)fenil)pirazin-2-il)-N-metilindolina-1-carboxamida

35

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



en el que: a es isocianato de metilo, DIEA, THF.

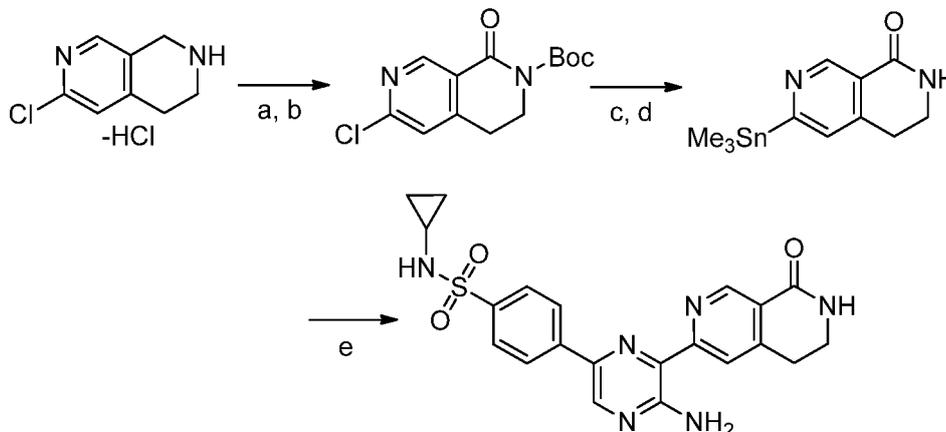
A una solución de 5-bromoindolina (1,0 g, 5,05 mmol) y DIEA (1,9 ml, 11,11 mmol) en THF (40 ml) se añadió le isocianato de metilo (346 mg, 6,06 mmol). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 4 h. El precipitado resultante se filtró y se secó al vacío para proporcionar 5-bromo-N-metilindolina-1-carboxamida (935 mg, rendimiento del 72 %) en forma de un sólido de color blanco. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7,75 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H), 7,17-7,31 (m, 2 H), 6,60 (d, $J = 4,27$ Hz, 1 H), 3,85 (t, $J = 8,78$ Hz, 2 H), 3,10 (t, $J = 8,66$ Hz, 2 H), 2,65 (d, $J = 4,27$ Hz, 3 H); MS (EI) $m/z = 255,1[\text{M}+1]^+$.

El método general G se aplicó a 5-bromo-N-metilindolina-1-carboxamida (935 mg, 3,67 mmol) para proporcionar N-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indolina-1-carboxamida en forma de una espuma de color blanco (1,10 g, rendimiento del 100 %) después de la purificación por cromatografía ultrarrápida (MeOH al 5 %/DCM). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{CLOROFORMO-}d$) δ ppm 1,34 (s, 12 H) 3,10-3,22 (m, 2 H) 3,90 (s, 2 H) 4,54-4,66 (m, 1 H) 7,60 (s a, 1 H) 7,66 (d a, $J = 1,00$ Hz, 1 H) 7,85 (d a, $J = 1,00$ Hz, 1 H) 7,84-7,91 (m, 1 H); MS (EI) $m/z = 301,0[\text{M}-1]^-$.

El método C se aplicó a N-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)indolina-1-carboxamida (85 mg, 0,28 mmol) y 4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida (100 mg, 0,26 mmol). La capa orgánica se decantó y después se trituró con Et_2O para proporcionar 5-(3-amino-6-(4-(N-ciclopropil-N-metilsulfamoyl)fenil)pirazin-2-il)-N-metilindolina-1-carboxamida en forma de un sólido de color amarillo (35 mg, rendimiento del 28%). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 8,58-8,66 (m, 1 H), 8,20-8,31 (m, 1 H), 7,92-7,99 (m, 1 H), 7,79-7,88 (m, 2 H), 7,47-7,64 (m, 2 H), 6,61-6,71 (m, 1 H), 6,60-6,65 (m, 1 H), 6,58-6,71 (m, 2 H), 6,42-6,49 (m, 2 H), 3,88-3,98 (m, 2 H), 3,13-3,25 (m, 2 H), 2,68 (s, 3 H), 2,08 (s, 3 H), 1,79-1,88 (m, 1 H), 0,62-0,81 (m, 4 H); MS (EI) $m/z = 479,1[\text{M}+1]^+$.

6.39. Síntesis de 4-(5-amino-6-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



en el que: a es Boc_2O , TEA, DCM; b es NaIO_4 , RuCl_3 , DCM, agua, MeCN; c es HCl, dioxano; y d es Me_6Sn_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, dioxano, 110 °C.

A una solución de clorhidrato de 6-cloro-1,2,3,4-tetrahidro-2,7-naftiridina (5,0 g, 24,4 mmol) y dicarbonato de terc-butilo (8,0 g, 36,6 mmol) en DCM (100 ml) a temperatura ambiente se le añadió trietilamina (10,2 ml, 73,2 mmol). Después de que se completara, la reacción se diluyó en DCM (100 ml), se lavó con NaHCO_3 sat. ac., se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. Este residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de EtOAc al 20 %/hexano) para proporcionar 6-cloro-3,4-dihidro-2,7-naftiridina-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (4,0 g, rendimiento del 61 %) en forma de un aceite transparente. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{METANOL-}d_4$) δ ppm 8,17 (s, 1 H), 7,30 (s, 1 H), 4,60 (s, 2 H), 3,66 (t, $J = 5,9$ Hz, 2 H), 2,88 (t, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 1,43-1,61 (m, 9 H); MS (EI) $m/z = 269,7[\text{M}+1]^+$.

A una solución de NaIO_4 (9,56 g, 44,7 mmol) y RuCl_3 (927 mg, 4,47 mmol) en agua (50 ml), DCM (50 ml) y MeCN (2 ml) se le añadió una solución de 6-cloro-3,4-dihidro-2,7-naftiridina-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (4,0 g, 14,9 mmol) en DCM (25 ml). Esta reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se interrumpió con isopropanol (10 ml), se filtró sobre celite y la torta de filtro se lavó con DCM (20 ml). El filtrado se repartió en un embudo de decantación y las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo con DCM (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , después se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente EtOAc al 20-50 %/hexano) para dar 6-cloro-1-oxo-3,4-dihidro-2,7-naftiridina-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (3,0 g, rendimiento del 71 %) en forma de un sólido

crystalino de color amarillo. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,92 (s, 1 H), 7,47 (s, 1 H), 4,03 (t, *J* = 6,3 Hz, 2 H), 3,09 (t, *J* = 6,1 Hz, 2 H), 1,54-1,62 (m, 9 H); MS (EI) *m/z* = 283,7 [M+1]⁺.

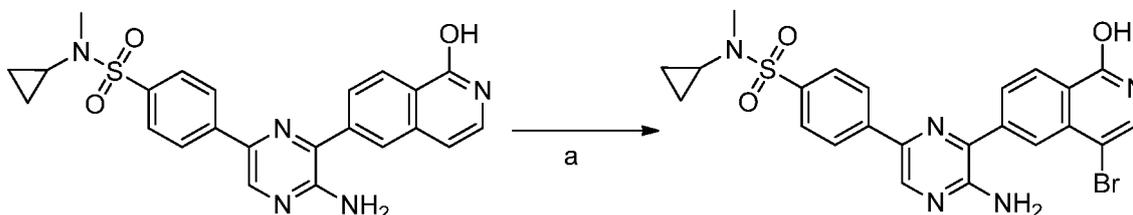
A una solución de 6-cloro-1-oxo-3,4-dihidro-2,7-naftiridina-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (3,0 g, 10,6 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió una solución 4 N de HCl en dioxano (10 ml). Después de agitar 20 minutos a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con DCM (50 ml, después se sonicó y se filtró para dar clorhidrato de 6-cloro-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona (2,22 g, rendimiento del 93%) en forma de un sólido de color blanco. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,70 (s, 1 H), 8,23 (s a, 1 H), 7,57 (s, *J* = 0,6 Hz, 1 H), 3,40 (t, *J* = 6,6, 2,8 Hz, 2 H), 2,96 (t, *J* = 6,6 Hz, 2 H); MS (EI) *m/z* = 183,6 [M+1]⁺.

Una solución de clorhidrato de 6-cloro-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona (800 mg, 3,7 mmol), hexametilditin (1,83 g, 5,6 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (214 mg, 0,19 mmol) en dioxano (40 ml) se desgasificó en nitrógeno en burbujeo y después se calentó a 110 °C durante 4h. Tras la finalización, la reacción se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre alúmina neutra (eluyente de EtOAc al 100 %, después eluyente de MeOH al 5 %/DCM). Esto produjo 6-(trimetilestannil)-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona (1,22 g, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color pardo que se usó sin purificación adicional. MS (EI) *m/z* [M+1]⁺ = 312.

Una solución de 4-(5-amino-6-bromopirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (150 mg, 0,41 mmol), 6-(trimetilestannil)-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona (150 mg, 0,48 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (23 mg, 0,02 mmol) en dioxano (2 ml) se calentó en el microondas 20 min a 150 °C. Tras la finalización, la mezcla de reacción se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para proporcionar 4-(5-amino-6-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida (8 mg, rendimiento del 5 %) en forma de un sólido de color naranja después de la liofilización. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,02 (s, 1 H), 8,87 (s, 1 H), 8,59 (s, 1 H), 8,35 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 8,17 (s a, 1 H), 7,84-7,99 (m, 3 H), 3,51 (t, 2 H), (t, *J* = 6,3 Hz, 2 H), 0,29-0,57 (m, 4 H); MS (EI) *m/z* = 437,5 [M+1]⁺.

6.40. Síntesis de 4-(5-amino-6-(4-bromo-1-hidroxiisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida

El compuesto del título se preparó mediante el método mostrado a continuación:



en el que: a es DMF:DMF-DMA (10:1), NBS.

A una suspensión a temperatura ambiente de clorhidrato de 4-(5-amino-6-(1-hidroxiisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida (1,00 g, 2,07 mmol, preparada por el método general C) en DMF (10 ml) se le añadió 1,1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (1 ml). En unos minutos, la suspensión se descargó a una solución. Después, se añadió en una porción N-bromosuccinimida (386 mg, 2,17 mmol). Después de 1 h, la reacción se concentró y se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente de MeOH al 4-8 %/DCM) para proporcionar clorhidrato de 4-(5-amino-6-(4-bromo-1-hidroxiisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida (480 mg, rendimiento del 43%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,59-11,67 (s a, 1 H), 8,77 (s, 1 H), 8,36 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 8,24-8,30 (m, 2 H), 8,17 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 7,99 (dd, *J* = 8,3, 1,5 Hz, 1 H), 7,86 (d, *J* = 8,5 Hz, 2 H), 7,62 (d, *J* = 6,0 Hz, 1 H), 6,76 (s a, 2 H), 2,69 (s, 3 H), 1,80-1,90 (m, 1 H), 0,76 (s, 2 H), 0,65-0,73 (m, 2 H); MS (EI) *m/z* = 527,4 [M+1]⁺.

6.41. Compuestos adicionales

Se prepararon numerosos compuestos adicionales, algunos de los cuales se enumeran a continuación en la Tabla 1. La Tabla 1 también proporciona resultados de ensayo in vitro, que se obtuvieron usando el ensayo descrito en el Ejemplo 6.42, en el que "-" indica que no se obtuvo una medición; * = Cl₅₀ < 0,15 μM; ** = Cl₅₀ < 0,05 μM; y *** = Cl₅₀ < 0,01 μM.

Tabla 1

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	
	ATP 1 μM	ATP 50 μM
4-(6-amino-6'-fluoro-[3,3'-bipiridin]-5-il)benzamida	--	--
4-(2-amino-5-(1H-pirazol-4-il)piridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-sulfamoilfenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(1-(N,N-dimetilsulfamoil)-1H-imidazol-4-il)piridin-3-il)benzamida	--	--
4-(5-(4-(1H-imidazol-1-il)fenil)-2-aminopiridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-benzoilfenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-fluorofenil)piridin-3-il)-2-etoxibenzamida	--	*
3-amino-N-(pentan-2-il)-6-(3,4,5-trimetoxifenil)pirazina-2-carboxamida	--	*
3-amino-N-ciclohexil-6-(3,4-dimetoxifenil)pirazina-2-carboxamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-(2-oxo-2-(pirrolidin-1-il)etil)fenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-(N-metilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
3-amino-N-ciclohexil-6-(4-(metoximetil)fenil)pirazina-2-carboxamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-(bencilcarbamoil)fenil)piridin-3-il)-N-hidroxibenzamida	--	*
6-(2-amino-5-(4-fluorofenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	*	**
4-(6-amino-5-(4-hidroxiquinazolin-7-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida	**	***
4-(2-amino-5-(4-(N,N-dietilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)-2-fluorobenzamida	--	**
4-(2-amino-5-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)benzamida	**	**
4-(6-amino-5-(3-hidroxi-1H-indazol-6-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida	--	*
3-amino-N-ciclohexil-6-(4-(N-etilsulfamoil)fenil)pirazina-2-carboxamida	*	**
4-(6-amino-5-(2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b]azepin-7-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida	--	*
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
2'-amino-5'-(4-(N,N-dietilsulfamoil)fenil)-[2,3'-bipiridina]-5-carboxamida	**	***
4-(6-amino-5-(3-oxo-2,3-dihidrobenzo[d]isoxazol-6-il)piridin-3-il)-N,N-dietilbencenosulfonamida	--	*
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N,N-di(trideuterometil)bencenosulfonamida	***	***
4-(5-(4-(N-acetilsulfamoil)fenil)-2-aminopiridin-3-il)benzamida	--	*
4-(6-amino-5-(4-hidroxiquinazolin-7-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida	**	***
2'-amino-5'-(4-(N-etilsulfamoil)fenil)-[2,3'-bipiridina]-5-carboxamida	**	***
4-(2-amino-5-(2-cloro-4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
4-(2-amino-5-(4-(2-(dimetilamino)-2-oxoetoxi)fenil)piridin-3-il)benzamida	--	*
3-amino-N-(4-(aminometil)ciclohexil)-6-(4-(N-ciclopropilsulfamoil)fenil)pirazina-2-carboxamida	**	***
4-(2-amino-5-(4-propoxifenil)piridin-3-il)benzamida	--	*

Compuesto	CI ₅₀ (µM)	
	ATP 1 µM	ATP 50 µM
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-trideuterometilbencenosulfonamida	***	***
6-(2-amino-5-(4-(etilsulfonil)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	**
4-(5-amino-6-(5-fenil-1H-imidazol-2-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	--	**
5-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-(2,2,2-trifluoroetil)tiofeno-2-carboxamida	*	**
6-(2-amino-5-(5-metiltiofen-2-il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-trideuterometilpiridina-3-sulfonamida	***	***
6-(2-amino-5-(2-(dimetilamino)tiazol-4-il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	--	**
(E)-4-(6-amino-5-(5-(hidroxiimino)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)piridin-3-il)-N-etilbencenosulfonamida	**	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
N-ciclopropil-4-(3-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)bencenosulfonamida	**	***
2-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-metilfenilsulfonamido)acetato de metilo	*	**
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6'-amino-N-etil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-(ciclopropilmetil)sulfonil)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-etilbencenosulfonamida	**	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-(ciclopropilmetil)-N-etilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-(2,2-difluoroetil)-N-metilbencenosulfonamida	**	***
6-(5-(4-(4-azaespiro[2,4]heptan-4-ilsulfonil)fenil)-2-aminopiridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
5-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-etil-N-metiltiofeno-2-sulfonamida	**	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-metil-N-propilbencenosulfonamida	***	***
6-(2-amino-5-(1,1-dióxido-2,3-dihidrobencodisotiazol-5-il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	
	ATP 1 μM	ATP 50 μM
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-hidroxiisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6'-amino-N-ciclopropil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(7-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)piridin-3-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
6-(3-amino-6-(4-(piperidin-1-ilsulfonil)fenil)pirazin-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona	***	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6'-amino-N-ciclopropil-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[3,3'-bipiridina]-6-sulfonamida	***	***
4-(3-amino-6-(4-(N-ciclopropil-N-metilsulfamoil)fenil)pirazin-2-il)-2-isopropoxibenzamida	**	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-trideuterometil-N-(2-dideutero-propil)bencenosulfonamida	***	***
N-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)fenil)etanosulfonamida	**	***
6'-amino-N-ciclopropil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida	***	***
6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-5',6'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-1'(2'H)-carboxilato de terc-butilo	*	**
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-metil-N-((1R,2R)-2-metilciclopropil)bencenosulfonamida	***	***
6-(2-amino-5-(2-oxoindolin-5-il)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	**
6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilpiridina-3-sulfonamida	***	***
6-amino-N,N-dimetil-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-5',6'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-1'(2'H)-sulfonamida	*	**
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-2-fluoro-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclobutil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilpiridina-3-sulfonamida	***	***
4-(2-amino-1'-(2-cianoacetil)-1',2',3',6'-tetrahidro-[3,4'-bipiridin]-5-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	*
5-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilpiridina-2-sulfonamida	**	***
6'-amino-N-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-N-propil-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	
	ATP 1 μM	ATP 50 μM
6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-((1S,2S)-2-(metoximetil)ciclopropil)-N-metilpiridina-3-sulfonamida	*	**
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-2-cloro-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,2-dimetilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)benzonitrilo	**	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclobutil-N-(2,2,2-trifluoroetil)bencenosulfonamida	**	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclobutilbencenosulfonamida	***	***
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)-2-metilpropanonitrilo	**	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-2-cloro-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-2-fluorobencenosulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	*	**
N-alil-4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N,2-dimetilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-2-cloro-N-metil-N-propilbencenosulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	*	**
4-(5-amino-6-(4,4-dideutero-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-trideuterometil-bencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-((2-hidroxipiridin-4-il)etil)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	**
6-(2-amino-5-(4-((ciclopropil(metil)amino)metil)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
6'-amino-N-ciclopropil-4-metil-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)-[2,3'-bipiridina]-5-sulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-(terc-butil)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
6-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-etil-N,4-dimetilpiridina-3-sulfonamida	***	***
1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopentanocarbonitrilo	***	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[c]azepin-7-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***

Compuesto	CI ₅₀ (µM)	
	ATP 1 µM	ATP 50 µM
1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[c]azepin-7-il)pirazin-2-il)-N-etil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
1-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	**	**
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)-2-metilpropanonitrilo	**	***
6-(3-amino-6-(4-(1-ciclopropiletoxi)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
6-(2-amino-5-(4-(2-(dimetilamino)propan-2-il)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenoxi)-2-metilpropanamida	**	***
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)acetato de etilo	*	**
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-1H-pirazol-1-il)acetnitrilo	*	**
4-(5-amino-6-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[c]azepin-7-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-2-metilfenil)-2-metilpropanonitrilo	**	***
2-(6'-amino-5'-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)H ₃ ,3'-bipiridin]-6-il)-2-metilpropanonitrilo	**	**
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenoxi)acetnitrilo	*	**
4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(2-oxo-1,2,3,4,5,6-hexahidrobenzo[b]azocin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	**
4-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(3-metil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroftalazin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
6-(3-amino-6-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
4-(5-amino-6-(2-metil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	**
4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	**	***
2-(5-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)tiofen-2-il)acetnitrilo	**	***
5-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-1-metil-2,3-dihidro-1H-indeno-1-carbonitrilo	**	***

Compuesto	CI ₅₀ (µM)	
	ATP 1 µM	ATP 50 µM
4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridazin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
1-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridazin-3-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	*	*
4-(5-amino-6-(4,4-dideutero-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
2-(5-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)tiofen-2-il)-2-metilpropanonitrilo	**	***
(1R,5S,6s)-6-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)-3-oxabicyclo[3.1.0]hexano-6-carbonitrilo	**	***
N-(4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)bencil)acetamida	**	***
6-(3-amino-6-(4-(4-hidroxitetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
4-(6-amino-5-(2-(2-cianoetil)-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	**
(R)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6-(2-amino-5-(4-(2-morfolinopropan-2-il)fenil)piridin-3-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
4-(6-amino-5-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
5-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-1-metil-2,3-dihidro-1H-indeno-1-carbonitrilo	*	***
4-(4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
2-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	**	***
6-(3-amino-6-(4-propionilfenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	**	***
4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[c]azepin-7-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-(1-(metilamino)ciclopropil)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	***	***

Compuesto	CI ₅₀ (µM)	
	ATP 1 µM	ATP 50 µM
4-(6-amino-5-(4,4-dimetil-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
1-(4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	***	***
4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-(pentafluorosulfanil)fenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona	*	**
(S)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
4-(4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	***	***
4-(4-(5-amino-6-(1-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[c]azepin-7-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	**	***
4-(4-(6-amino-5-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	***	***
(R)-4-(6-amino-5-(3-((benciloxi)metil)-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	*	***
(S)-4-(6-amino-5-(3-(hidroximetil)-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
1-(4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	***	***
4-(5-amino-6-(5-oxo-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[f][1,4]oxazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-2-metilbencenosulfonamida	**	***
4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-2-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-2-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
(S)-4-(5-amino-6-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
(S)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
(S)-4-(6-amino-5-(3-metil-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-8-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(4-(6-amino-5-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)piridin-3-il)fenil)tetrahidro-2H-piran-4-carbonitrilo	***	***

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	
	ATP 1 μM	ATP 50 μM
4-(6-amino-5-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(4-(5-amino-6-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)pirazin-2-il)fenil)tetrahydro-2H-piran-4-carbonitrilo	**	***
4-(6-amino-5-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)piridin-3-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	**	***
4-(4-(6-amino-5-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)piridin-3-il)fenil)tetrahydro-2H-piran-4-carbonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(4,4-dideutero-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
5-(3-amino-6-(4-(N-ciclopropil-N-metilsulfamoil)fenil)pirazin-2-il)-N-metilindolina-1-carboxamida	**	***
1-(4-(5-amino-6-(3'-oxospiro[ciclopropano-1,1'-isoindolin]-6'-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo	**	***
6'-(3-amino-6-(4-fluorofenil)pirazin-2-il)-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-1'-ona	*	***
4-(5-amino-6-(1'-oxo-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-6'-il)pirazin-2-il)benzonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(3,3-dimetil-1-oxoisoindolin-5-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	**	***
4-(6-amino-5-(3,3-dimetil-1-oxoisoindolin-5-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(4-bromo-1-hidroxiisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(6-amino-5-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)piridin-3-il)benzonitrilo	**	***
4-(5-amino-6-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)pirazin-2-il)benzonitrilo	***	***
4-(5-amino-6-(4,4-dimetil-1,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropilbencenosulfonamida	*	*
4-(6-(1-acetil-3,3-dimetilindolin-5-il)-5-aminopirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	**	***
6-(2-amino-5-(4-fluorofenil)piridin-3-il)-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona	**	**
4-(6-amino-5-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
4-(5-amino-6-(8-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-2,7-naftiridin-3-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida	***	***
6-(3-amino-6-(4-fluorofenil)pirazin-2-il)-3,4-dihidro-2,7-naftiridin-1(2H)-ona	***	***

6.42. Medición in vitro de la inhibición de MST1

Se realizaron ensayos en proxiplacas negras de 384 pocillos de bajo volumen (Perkin Elmer, PE-Blk-Proxi-6008269).

Ocho compuestos se diluyeron en primer lugar en placas LDV (Echo) usando una Multiprobe, a una concentración inicial de compuesto 1 mM en DMSO al 100 %. Utilizando el ECHO, se hizo muestreo en un compuesto de 75 nl en proxiplacas de 384 pocillos. La concentración de partida del compuesto en cada placa de ensayo es de 7,5 μ M, seguido de diluciones de 3 veces, para dar curvas de concentración de diez puntos cuadruplicadas. Se añadió una solución 3 x de la enzima MST1 en tampón de cinasa (Invitrogen, PR4940C) a pocillos que contenían compuestos o controles de DMSO, seguido de una etapa de preincubación de 10 minutos. Las reacciones se iniciaron añadiendo 5 μ l de una mezcla de ATP y Z'-Lyte S/T Pep 7 (Invitrogen, PV3180) y avanzaron a TA durante 1 hora. La concentración final de reactivos clave en las reacciones de cinasa fue de sustrato 1 μ M, enzima 1 nM, ya sea ATP 50 μ M o ATP 1 mM. Al final de la reacción de cinasa, se añadieron 10 μ l de solución en desarrollo (Invitrogen, catálogo n.º PR4876B; tampón de desarrollo A diluido a 150.000X en tampón de desarrollo B) a cada pocillo y se incubaron a TA durante 1 hora. Todos los pocillos se leyeron en un Tecan a 400 nm de excitación y 460 nm/530 nm de emisión. Se usaron controles más o menos enzimáticos para calcular el porcentaje de inhibición y se generaron curvas de CI_{50} usando Excel.

15 6.43. Ensayo basado en células

También se usó un ensayo basado en células que controla la autofosforilación de MST1 intracelular para caracterizar compuestos de la invención. En este ensayo, se transfectaron células HEK293F con un plásmido que codificaba MST1 humano de longitud completa. Las células se cultivaron en medio celular (DMEM, FBS al 10 %, 1X GPS) hasta un 80-90 % de confluencia en placas de cultivo de 24 pocillos. En el primer día, se tripsinizaron $\sim 2 \times 10^7$ células y resuspendieron en 20 ml de medio celular menos el GPS. Se transfirió un ml de esta suspensión de células a una copa de muestra de células Vi y se contaron las células en un Beckman Coulter Vi-Cell XR. Después, las células después se diluyeron a 3×10^5 /por ml en DMEM + FBS al 10 %, suficiente para 12 ml para una placa de 24 pocillos. Cada pocillo de una placa de 24 pocillos recibió 500 μ l de esta suspensión celular para una concentración final de $1,5 \times 10^5$ células por pocillo. Las células se incubaron después durante la noche a 37 °C y CO_2 al 5 %.

En el día dos, se transfectó cada pocillo con 0,5 μ g de ADN y 1,5 μ l de Lipofectamina 2000 (Invitrogen, cat. n.º 11668-019). La mezcla de ADN está constituida por 5 ng de MST1 T183E, 50 ng de MEKK1, 445 ng de pcDNA3.1, y 50 μ l de OPTI-MEM. La Lipofectamina 2000 está compuesta por 1,5 μ l de lipofectamina 2000 y 50 μ l de OPTI-MEM. La mezcla de ADN se pipeteó primero en tubos de 15 ml y se incubó a TA durante 5 minutos seguido de la adición de la mezcla de lipofectamina y la incubación a TA durante 20 minutos. Se añadieron 100 μ l de mezcla de transfección de ADN a las células en cada pocillo de una placa de 24 pocillos, seguido de incubación durante una noche a 37 °C y CO_2 al 5 %.

El día 3, los compuestos se diluyeron en serie con DMSO al 100 % y se transfirió un μ l a los pocillos de una placa de 96 pocillos de 1 ml de profundidad. Las placas se transfirieron entonces a una campana TC y se añadió 1 ml de DMEM + FBS al 0,5 % a cada pocillo que contenía 1 μ l de compuesto. (concentración final de DMSO al 0,1 %). Después, se aspiró la mezcla de medio/transfección de cada pocillo de la placa de 24 pocillos que contenía las células, seguido de la adición de 300 μ l de cada dilución del compuesto (las diluciones restantes del compuesto se mantuvieron a 4 °C para su uso posterior). Después, las placas se incubaron a 37 °C y CO_2 al 5 % durante 4 horas. A continuación se pipeteó 1 μ l de ácido okadaico 225 μ M en DMSO al 100 % en una nueva placa de 96 pocillos de 1 ml de profundidad, seguido de la adición de 300 μ l de dilución del compuesto (almacenado a 4 °C en la etapa anterior) para dar una concentración final de ácido okadaico 0,75 μ M. La mezcla de medio/compuesto se aspiró entonces de placas que contenían placas de 24 pocillos y luego se reemplazó con la mezcla de medio/compuesto/ácido okadaico. Las células se incubaron a 37 °C y CO_2 al 5 % durante 2 more horas. Las células se separaron por simple pipeteo y las suspensiones celulares de cada pocillo se transfirieron a nuevos tubos de 1,5 ml. Los tubos que contenían los medios se centrifugaron a 1000xg durante 5 minutos para sedimentar las células y los sobrenadantes se retiraron cuidadosamente y se desecharon. Los gránulos celulares se congelaron generalmente a -80 °C hasta la siguiente etapa.

El día 4, las células se lisaron y se prepararon para análisis de transferencia de Western de la siguiente manera. Los gránulos celulares se descongelaron sobre hielo. El tampón de lisis consistió en los siguientes componentes: Tris, pH 7,5, NaCl 150 mM, Na_2EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton al 1 %, pirofosfato sódico 2,5 mM, β -glicerofosfato 1 mM, Na_3VO_4 1 mM, 1 μ g/ml de leupeptina, EDTA 10 mM, cóctel de inhibidores de proteasa y fosfatasa 2X Halt (Thermo Scientific; cat. n.º 1861284). Se añadieron 100 μ l de tampón de lisis recién preparado por muestra, seguido de incubación en hielo durante 15 minutos, agitación en vórtice durante 10-15 segundos y centrifugación a 12.000 xg durante 30 segundos. Los sobrenadantes se retiraron cuidadosamente y se mezclaron con tampón de muestra 4X LDS de Invitrogen (cat. n.º NP0008; con DTT 50 mM añadido fresco). Las muestras se desnaturalizaron a 70 °C durante 10 minutos en una máquina de PCR, y se cargaron 10 μ l por carril en 2 x geles de 26 pocillos Criterion (Biorad, cat. n.º 345-0034). Después del SDS-PAGE, las muestras se transfirieron de gel a membrana de PVDF, se bloquearon durante una hora en TBST + leche al 5 %, y se lavaron 3 x durante 5-10 min con TBST. Una membrana se sondeó con anti-MST1 de conejo (1:3000; Millipore, cat. n.º 07-061) diluido en TBST + leche al 5 %, y otra membrana se sondeó con anti-fosfo-MST1 de conejo (T183; Cell Signaling, cat. n.º 3681) (1:2000) diluido en TBST + BSA al 5 % seguido de incubación durante una noche a 4 °C.

En el día 5, las transferencias de Western se lavaron 3 veces durante 5-10 minutos con TBST, la sonda con anti-conejo-HRP (1:3000; Biorad, cat. n.º 170-6515) se diluyó en TBST + leche al 5 % durante 1 hora a TA, y se lavó 3 veces durante 10 minutos con TBST. Las manchas se desarrollaron con el reactivo ECL (GE Healthcare, cat. n.º RPN2132) en un sistema Biorad Versadoc Imagin (modelo 5000) y se realizó un análisis de volumen en cada banda para obtener valores de densidad.

6.44. Farmacología de 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida

El compuesto 4-(6-amino-5-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)piridin-3-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida se ensayó en el modelo de enfermedad de EAE descrito anteriormente. En un primer estudio, el efecto profiláctico del compuesto se midió: a los ratones se les dosificó en general PO, bid, durante 22 días, comenzando en el Día (-1) antes de la inmunización con péptido MOG (en el grupo de 100 mpk, el compuesto se dosificó BID en los días -1- 9, y QD los días 10-21). Se ensayaron cuatro grupos de ratones (n = 10 por grupo): control de vehículo; 10 mg/kg, 30 mg/kg, y 100 mg/kg de compuesto. Los resultados se muestran en la Figura 2A, en la que * indica p < 0,05 frente a control.

Un segundo estudio examinó el efecto terapéutico del compuesto. Aquí, los ratones se dosifican generalmente PO, BID, durante 14 días, comenzando el Día 9 después de la inmunización con péptido MOG (en el grupo de 100 mpk, el compuesto se dosificó BID en los días 9-13, y QD los días 14-23). Los resultados se muestran en la Figura 2B, en la que * indica p < 0,05 frente a control.

El compuesto también se estudió en un modelo de EAE de rata. En este caso, se administraron a cuatro grupos de ratas (n = 10 por grupo) control de vehículo, dosis de 10 mg/kg, 25 mg/kg, o 50 mg/kg, PO, BID. La dosificación comenzó el día 9 después de la inmunización. Como se muestra en la figura 3, el compuesto mostró otra vez una reducción dependiente de la dosis en la gravedad de la puntuación clínica (* indica p < 0,05 frente al control).

La figura 4 muestra los resultados obtenidos a partir de un estudio del compuesto en un modelo de enfermedad CIA. En este ensayo, los ratones se dosificaron PO, bid, durante 21 días, comenzando el Día 20 después de la inmunización. Se utilizaron cuatro grupos de ratones (n = 10 por grupo): control de vehículo, 10 mg/kg, 30 mg/kg, y 100 mg/kg. Se observó un claro beneficio frente al control (* indica p < 0,05 frente a control).

El compuesto se estudió adicionalmente en un modelo de enfermedad CIA de rata, utilizando cuatro grupos de ratas (n = 10 por grupo): control de vehículo, 10 mg/kg, 25 mg/kg, y 50 mg/kg. Las ratas se dosificaron PO, BID (grupos de 10 y 25 mg/kg) o QD (grupo de 50 mg/kg) a partir del Día 11 después de la inmunización. Como se muestra en la figura 5, el compuesto mostró de nuevo un efecto terapéutico. La figura 5A muestra la puntuación acumulada de la artritis en función del tiempo y la dosis; la figura 5B muestra el cambio en el espesor del tobillo en función del tiempo y la dosis (* indica p < 0,05 frente al control). Aquí, el espesor del tobillo se midió por volumen (desplazamiento de agua).

La figura 6 muestra el efecto del compuesto sobre la enzima hepática y la respuesta de citoquinas en un modelo de hepatitis inducida por Con-A. Se utilizaron cuatro grupos de ratones (n = 10 por grupo): control de vehículo, 10 mg/kg, 30 mg/kg, y 100 mg/kg. Los ratones se dosificaron 16 h y 1 h antes, y 8 h después, la exposición a Con-A. Se observó un efecto claro en TNF- α , IL-6, MCP-1, IFN- γ , ALT y AST (* indica p < 0,05 frente a control; ** indica p < 0,1 frente a control).

6.45. Farmacología de 1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropanocarbonitrilo

El compuesto 1-(4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)fenil)ciclopropano-carbonitrilo se estudió en un modelo de EAE de rata. Aquí, se administraron a cinco grupos de ratas (n = 10 por grupo) control de vehículo, dosis de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, o 10 mg/kg, PO, QD, comenzando el Día 10 después de la inmunización. Como se muestra en la figura 7A, el compuesto mostró una reducción dependiente de la dosis en la gravedad de la puntuación clínica (* indica p < 0,05 frente al control). El efecto también se observa en la figura 7B, que muestra el desarrollo de la enfermedad en función del grupo de ensayo.

La figura 8 muestra el efecto del compuesto sobre la enzima hepática y la respuesta de citoquinas en un modelo de hepatitis inducida por Con-A. Se utilizaron cinco grupos de ratones (n = 10 por grupo): control de vehículo, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg, y 30 mg/kg. Los ratones se dosificaron PO 16 h y 1 h antes, y 8 h después, la exposición a Con-A. Se observó un efecto claro en TNF- α , IL-6, MCP-1, IFN- γ , ALT y AST (* indica p < 0,05 frente a control).

6.46. Farmacología de 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida

El compuesto 4-(5-amino-6-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-il)pirazin-2-il)-N-ciclopropil-N-metilbencenosulfonamida se estudio en un modelo de EAE de ratón. Aquí, se administraron a cuatro grupos de ratones (n

= 10 por grupo) control de vehículo, dosis de 3 mg/kg, 10 mg/kg, o 30 mg/kg BID durante 12 días, comenzando el Día 9 después de la inmunización con péptido MOG. La figura 9A muestra el efecto de la dosificación subcutánea: se observó una clara dependencia de la dosis en la puntuación clínica (* indica $p < 0,05$ frente a control). La figura 9B muestra el efecto de la dosificación oral (PO).

5 También se observó el efecto del compuesto en un modelo de CIA de ratón en función de la dosis y el método de administración. Las figuras 10A y 10B muestran el efecto del compuesto sobre las puntuaciones acumuladas y el cambio en el espesor del tobillo cuando se administra por vía subcutánea (* indica $p < 0,05$ frente a control) a tres grupos de ratones ($n = 10$ por grupo). A los grupos se les administró el control de vehículo, dosis de 10 mg/kg, o 30 mg/kg BID durante tres semanas, comenzando el día 20 después de la inmunización con colágeno. Las figuras 10C y 10D muestran los resultados obtenidos cuando el compuesto se administró por vía oral (* indica $p < 0,05$ frente a control) a cuatro grupos de ratones ($n = 10$ por grupo). A los grupos se les administró el control de vehículo, dosis de 10 mg/kg, 30 mg/kg, o 50 mg/kg BID durante tres semanas, comenzando el día 20 después de la inmunización con colágeno.

15 LISTA DE SECUENCIAS

<110> LEXICON PHARMACEUTICALS INC.

20 <120> INHIBIDORES DE CINASA MST1 Y MÉTODOS PARA SU USO

<130> LEX-1295-WO-PCT

25 <140> PCT/US2012/027376

<141> 02-03-2012.

<150> US 61/449.171

<151> 04-03-2011

30 <160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

35 <211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial.

<220>

40 <223> Sintética

<400> 1

Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Ser Pro Phe Ser Arg Val Val His Leu
1 5 10 15

Tyr Arg Asn Gly Lys
20

45

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial.

50

<220>

<223> Sintética

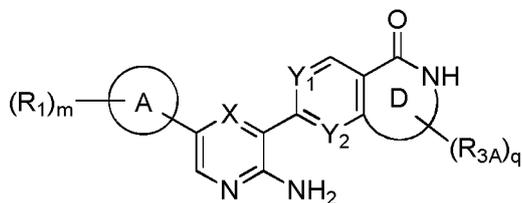
<400> 2

55

Tyr Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ala Gln Arg Pro Gln Asp Glu Asn
1 5 10 15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

A es arilo o heterociclo de 4-7 miembros;

10 D es un heterociclo no aromático de 5-7 miembros;

X es N o CH;

cada uno de Y₁ e Y₂ es independientemente N o CH;

15 cada R₁ es independientemente R_{1A}, -(R_{1B})_nSO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nSO_pN(R_{1C})₂, -(R_{1B})_nNR_{1C}SO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nC(O)N(R_{1C})₂, o -(R_{1B})_nNR_{1C}C(O)R_{1C}, o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de R_{1A};

20 cada R_{1A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;

cada R_{1B} es independientemente hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido con uno o más de amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;

25 cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;

cada R_{3A} es independientemente amino, alcoxilo, carboxilo, ciano, halo, o hidroxilo;

k es 0 o 1;

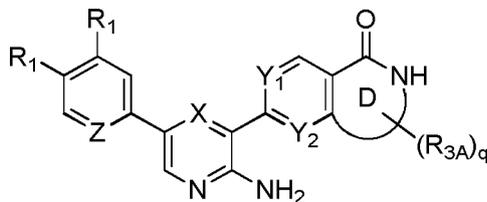
m es 0-3;

n es 0 o 1;

30 p es 0-2; y

q es 0-2.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que es de la fórmula:



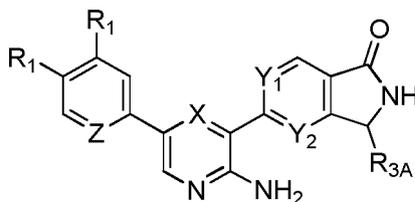
30

en la que:

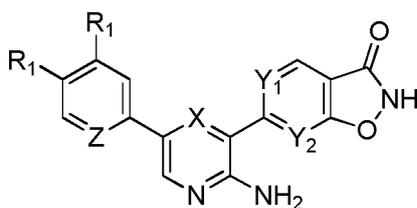
Z es N o CR₁.

35

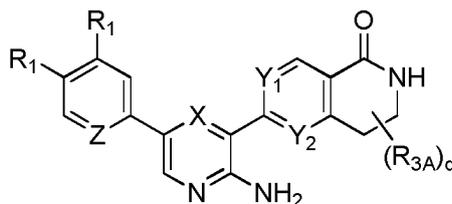
3. El compuesto de la reivindicación 2, que es de la fórmula:



40 o que es de la fórmula:

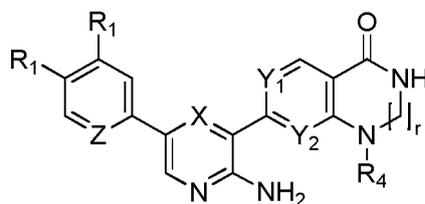


o que es de la fórmula:



5

o que es de la fórmula:



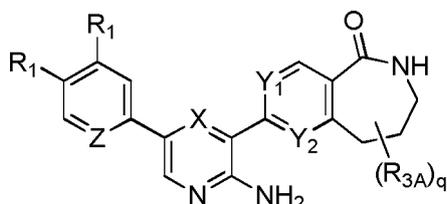
10

en la que:

R₄ es hidrógeno o alquilo; y
r es 1 o 2,

15

o que es de la fórmula:



20

4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que X es N.

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que Y₁ es CH.

25

6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que Y₂ es CH.

7. El compuesto de la reivindicación 3, en el que Z es N cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento.

30

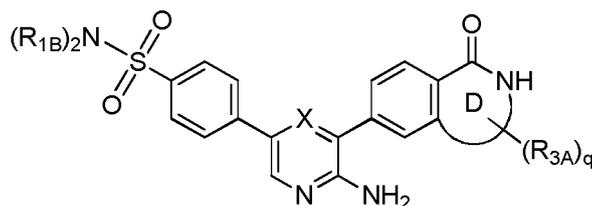
8. El compuesto de la reivindicación 3, en el que Z es CR₁ cuando sea aplicable a las fórmulas desveladas en el presente documento.

9. El compuesto de cualquiera de la reivindicación 1-3, en el que R₁ es -(R_{1B})_nSO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nSO_pN(R_{1C})₂, -(R_{1B})_nNR_{1C}SO_pR_{1C}, -(R_{1B})_nC(O)N(R_{1C})₂, o -(R_{1B})_nNR_{1C}C(O)R_{1C}.

35

10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que n = 0, o en el que p = 2.

11. El compuesto de la reivindicación 1, que es de la fórmula:



12. Una formulación que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 5
13. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o la formulación de la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento, gestión o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio o autoinmune, por ejemplo, aclorhidra autoinmune, enfermedad de Addison, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, asma (por ejemplo, asma bronquial), dermatitis atópica, gastritis atrófica autoinmune, enfermedad de Behcet, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, dermatomiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, hepatitis (por ejemplo, inflamatoria e inducida con alcohol), atrofia adrenal idiopática, trombocitopenia idiopática, síndrome de Kawasaki, síndrome de Lambert-Eaton, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, miastenia gravis, penfigoide, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, polinosis, poliarteritis nodosa, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, psoriasis, artritis psoriática, Raynauds, síndrome de Reiter, policondritis recidivante, artritis reumatoide, síndrome de Schmidt, esclerodermia, síndrome de Sjogren, oftalmía simpática, artritis de Takayasu, arteritis temporal, tirotoxicosis, rechazo de trasplante (por ejemplo, de órgano, célula o médula ósea), diabetes de tipo 1, colitis ulcerosa, uveítis, y granulomatosis de Wegener.
- 10
- 15
- 20
14. El compuesto o formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la enfermedad o trastorno autoinmune es enfermedad de Crohn, enfermedad de injerto contra huésped, psoriasis, artritis reumatoide, o colitis ulcerosa.

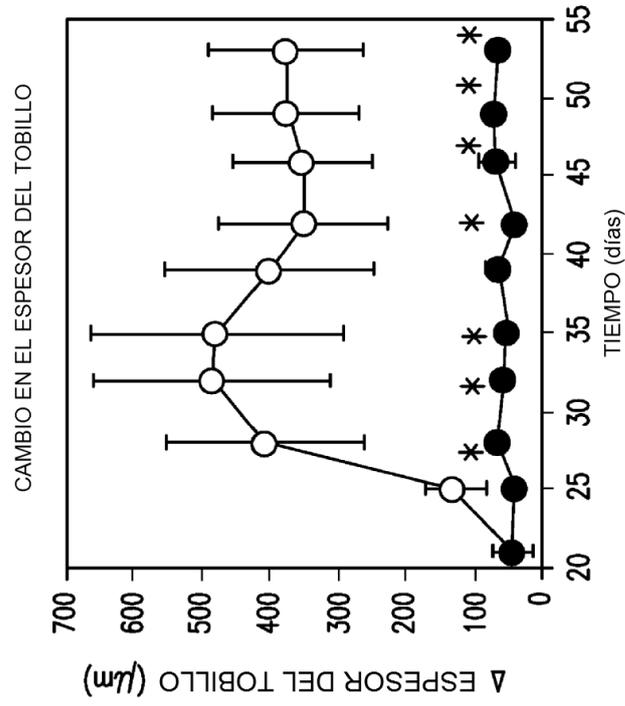


FIG. 1B

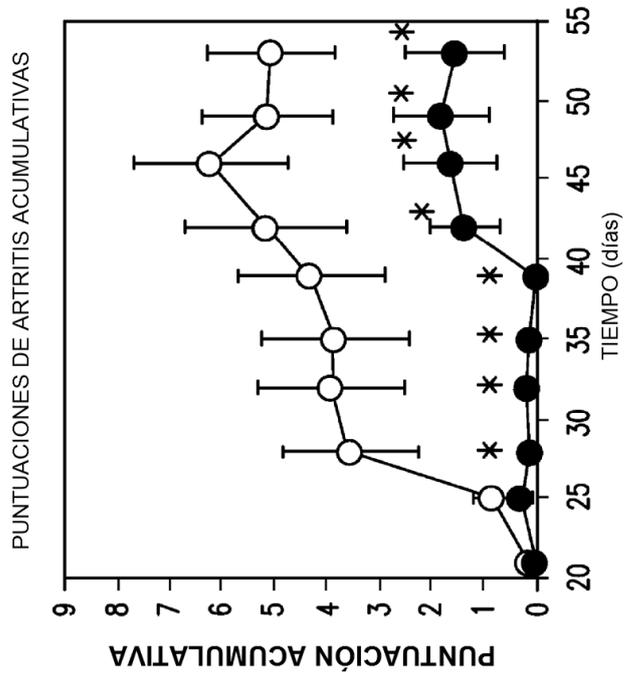


FIG. 1A

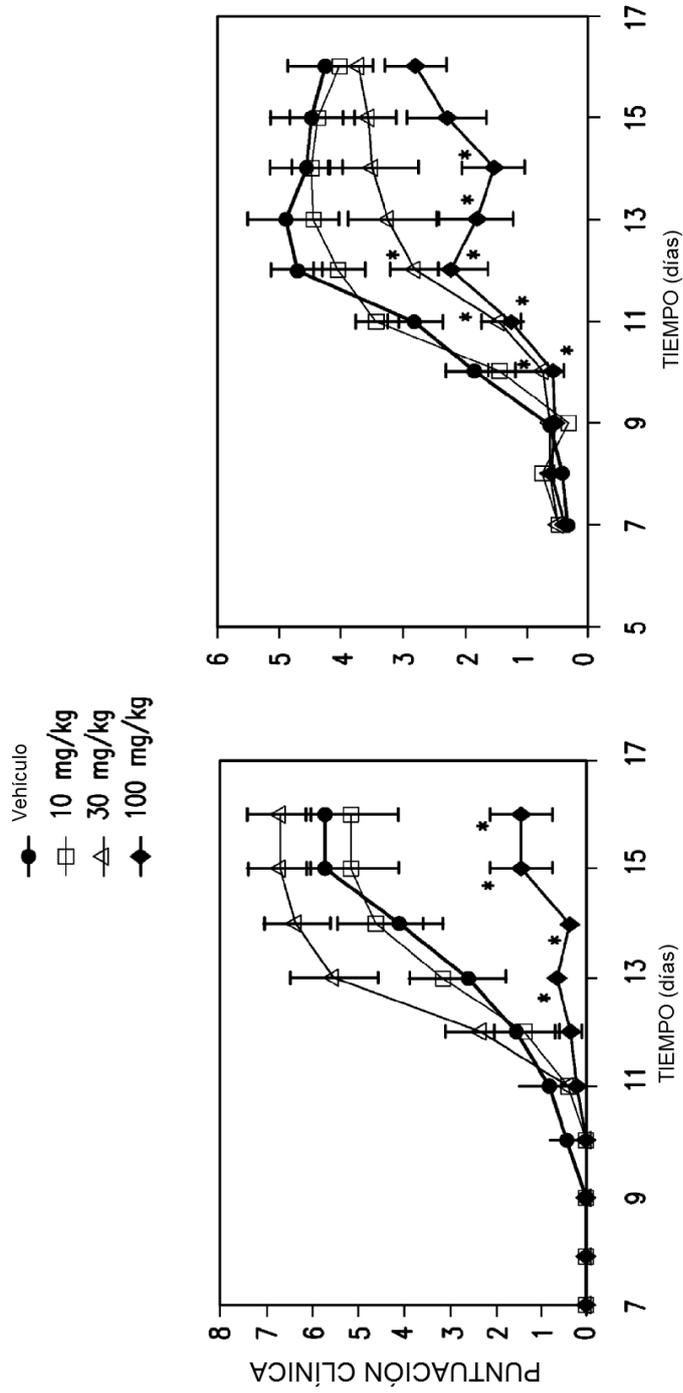


FIG. 2B

FIG. 2A

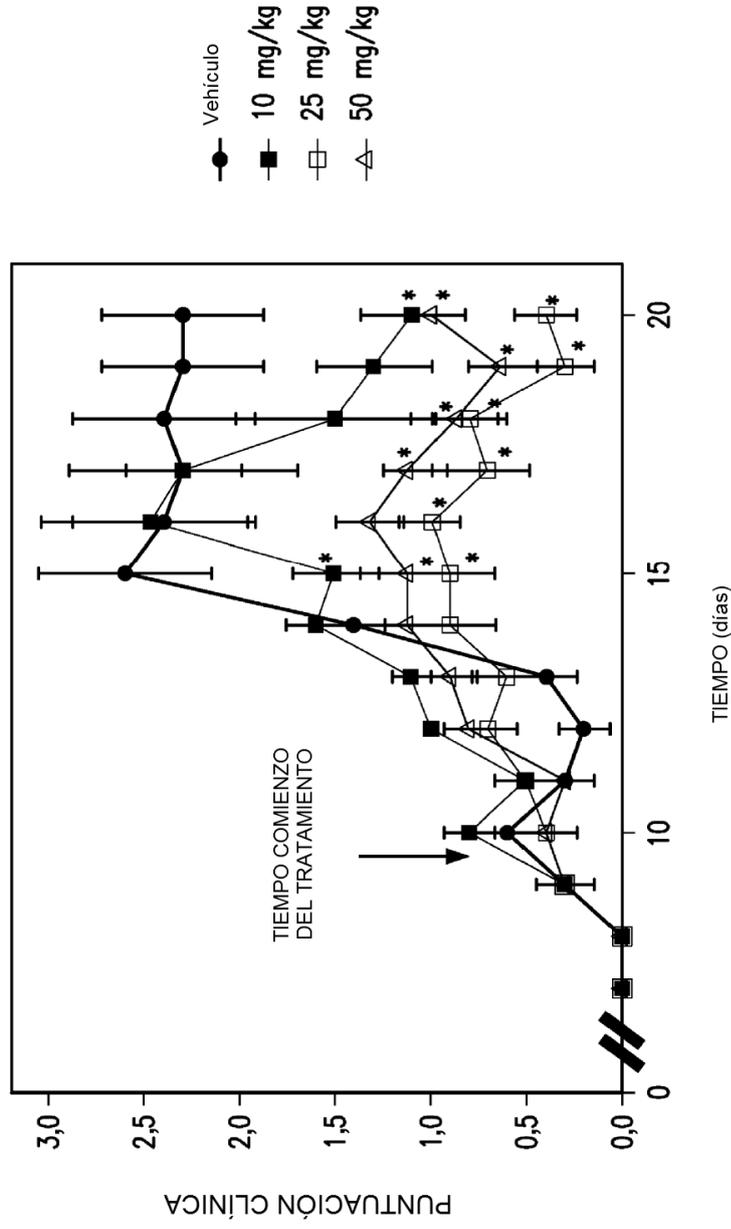


FIG. 3

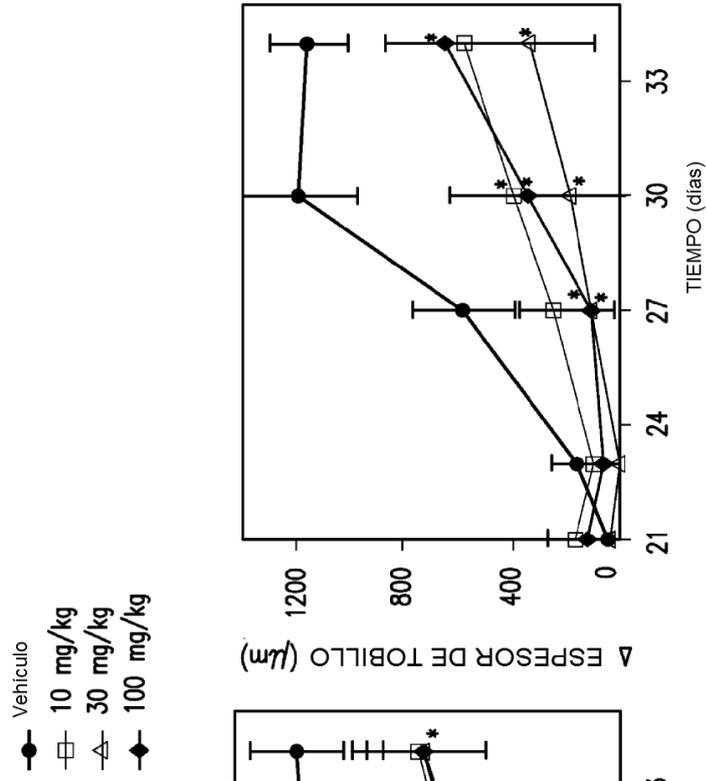


FIG. 4B

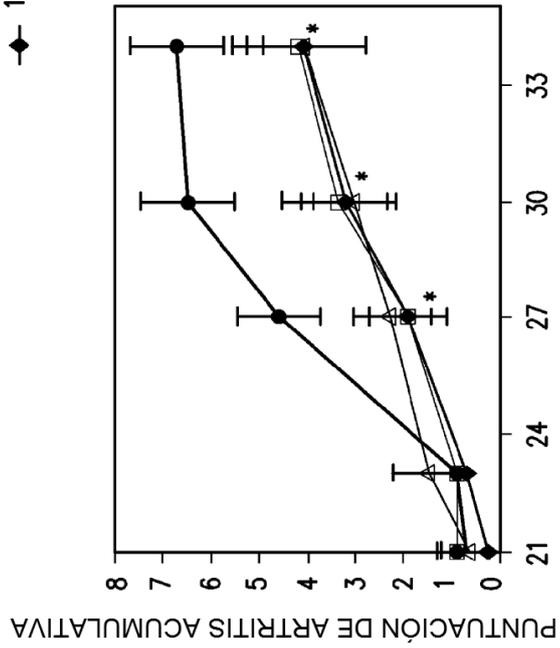
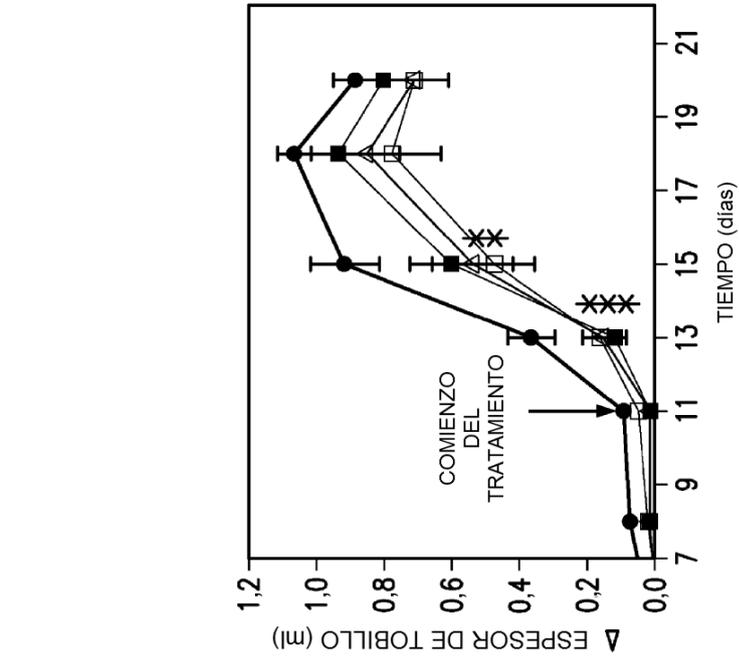


FIG. 4A



Vehículo
 10 mg/kg
 25 mg/kg
 50 mg/kg

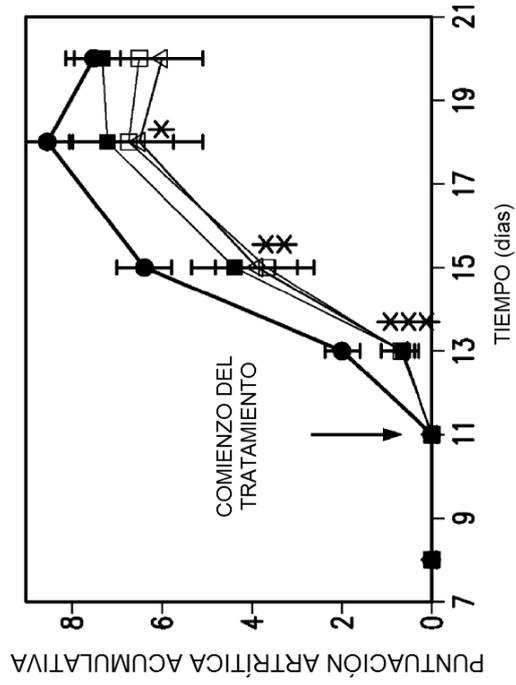


FIG. 5A

FIG. 5B

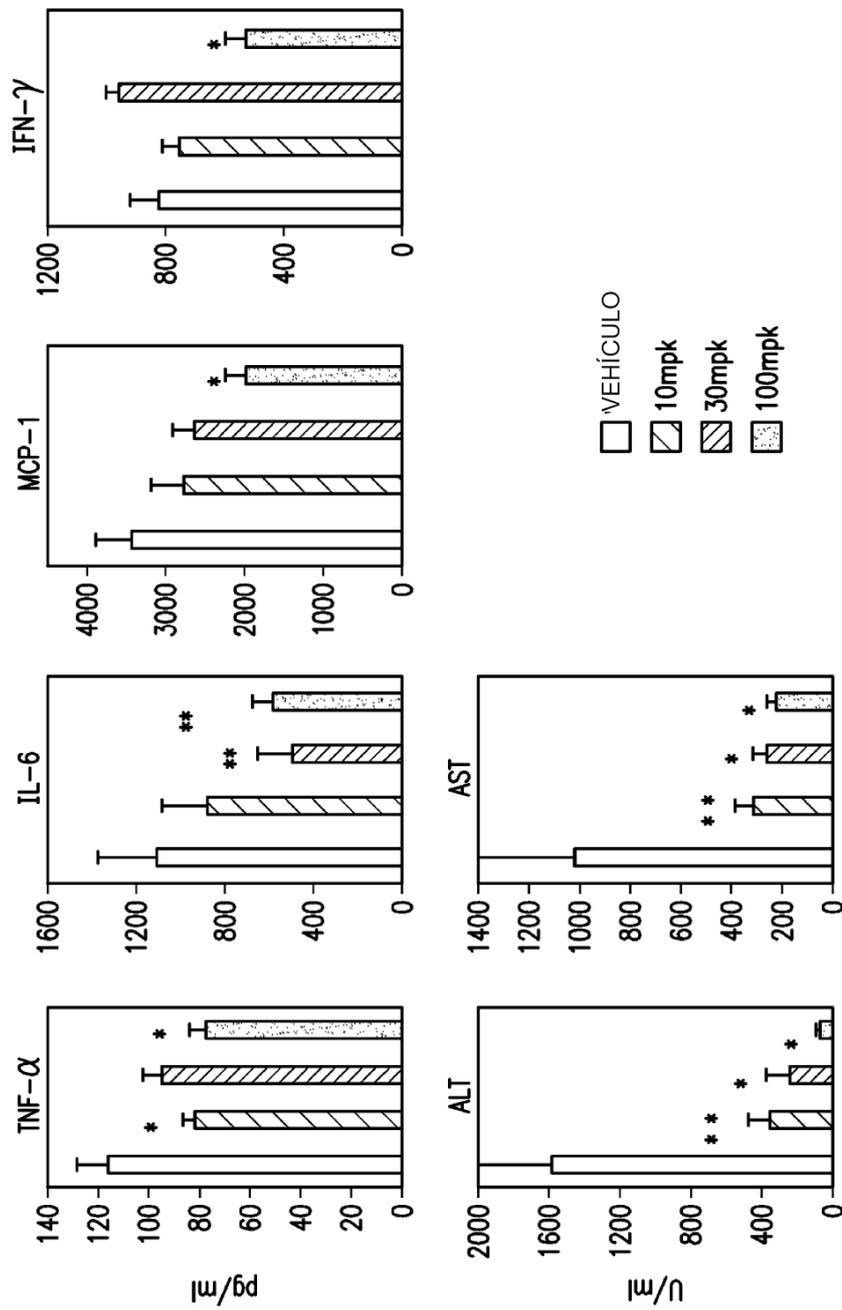


FIG. 6

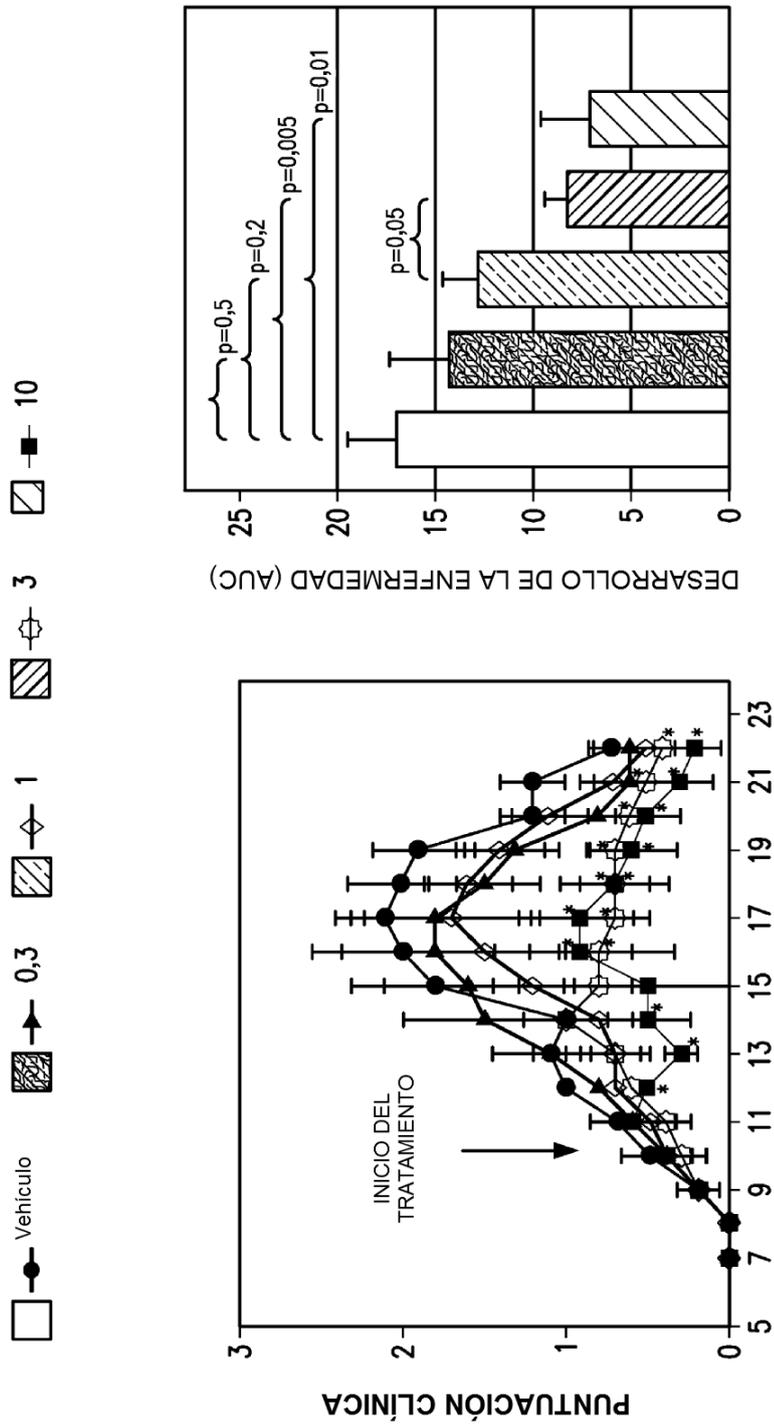


FIG. 7B

FIG. 7A

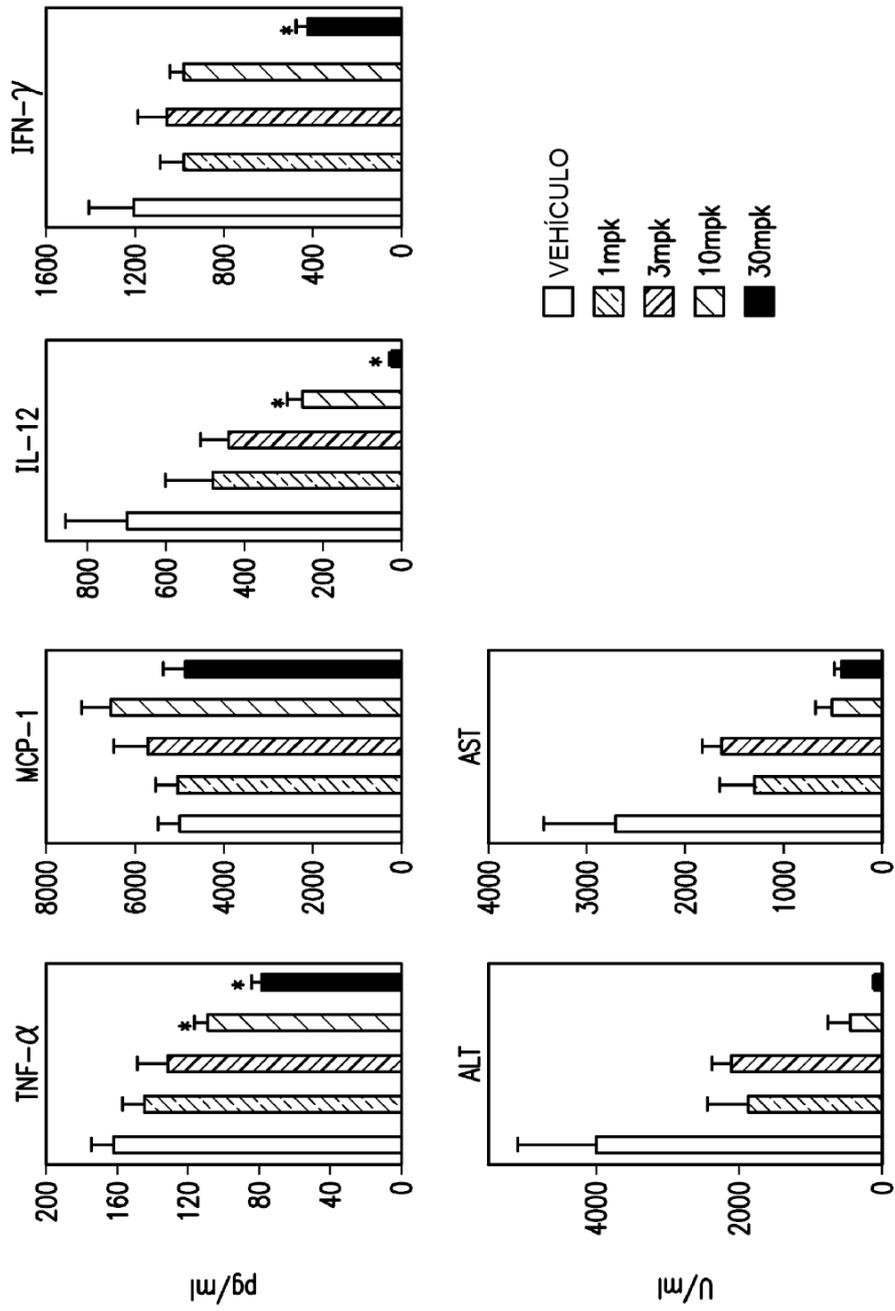


FIG. 8

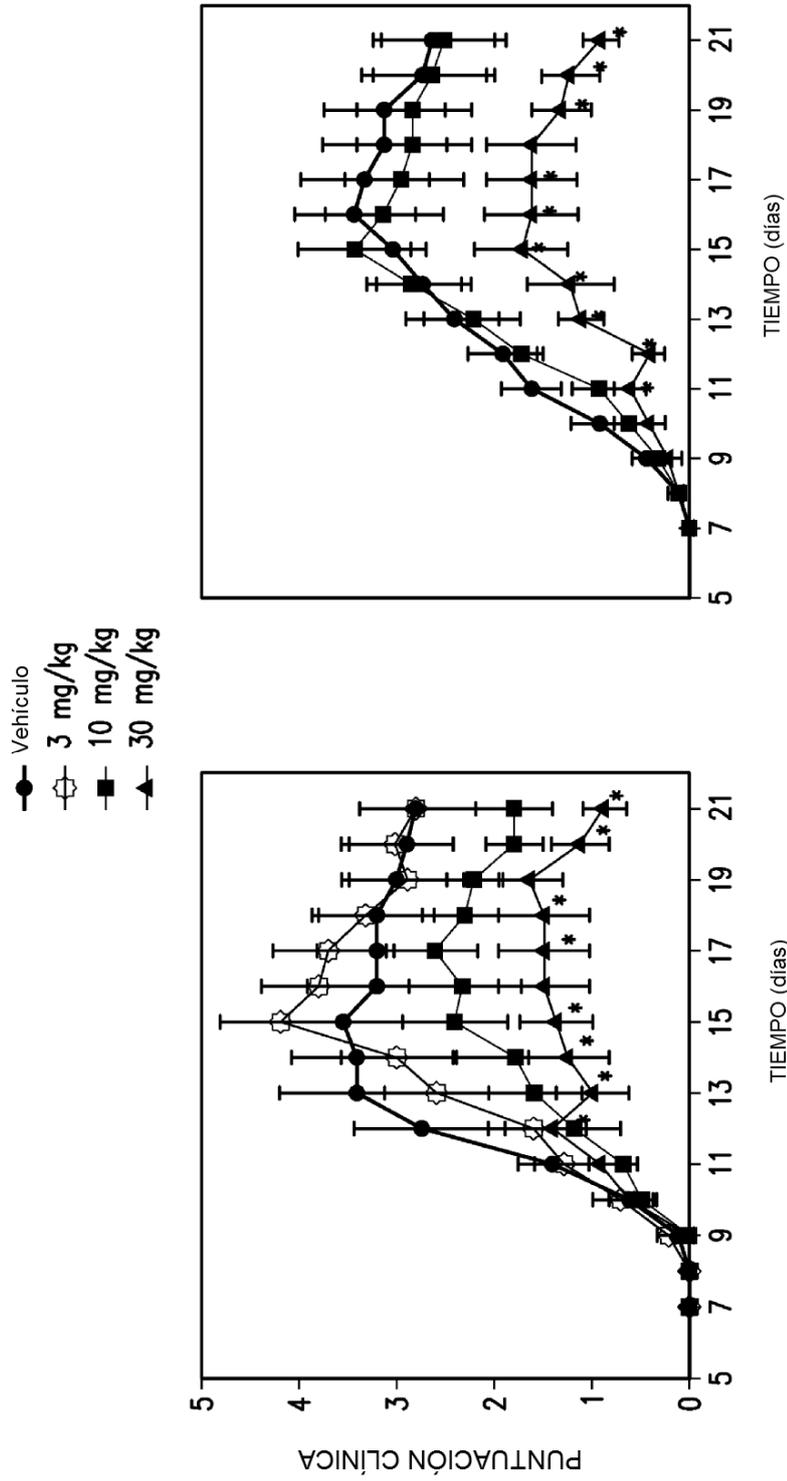


FIG. 9B

FIG. 9A

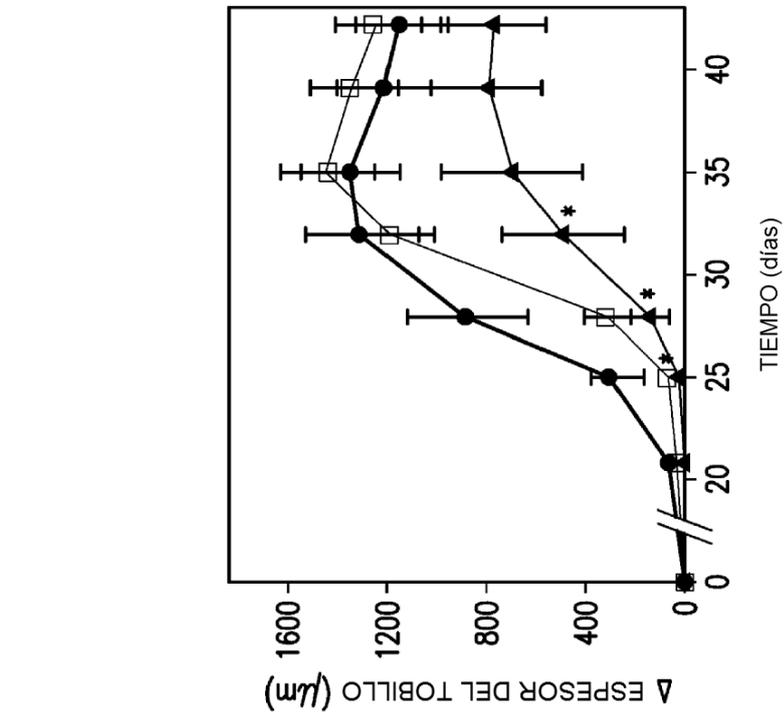


FIG. 10B

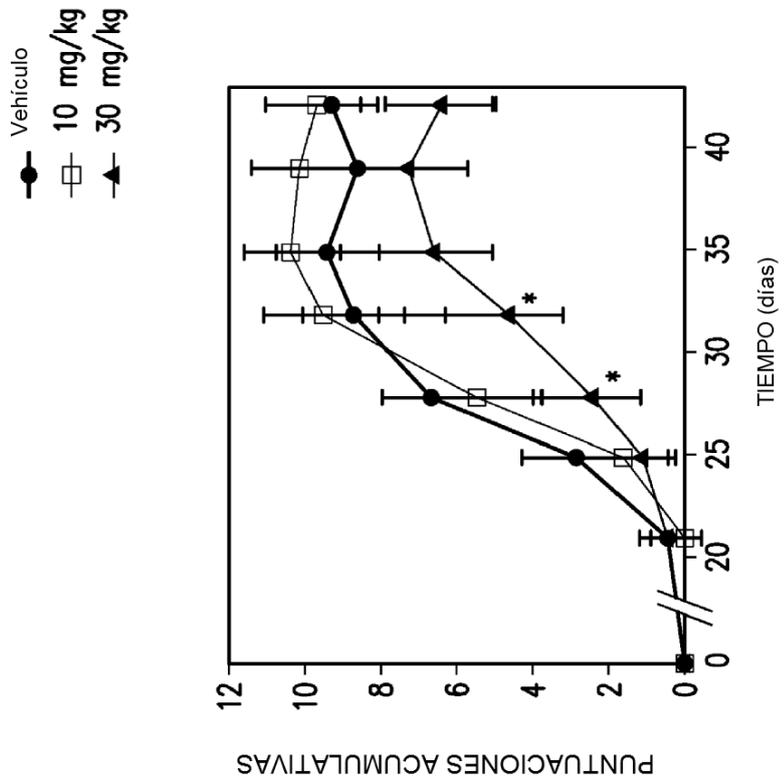


FIG. 10A

● Vehículo
 □ 10 mg/kg
 ▲ 30 mg/kg

- Vehículo
- 10 mg/kg
- ▲ 30 mg/kg
- △ 50 mg/kg

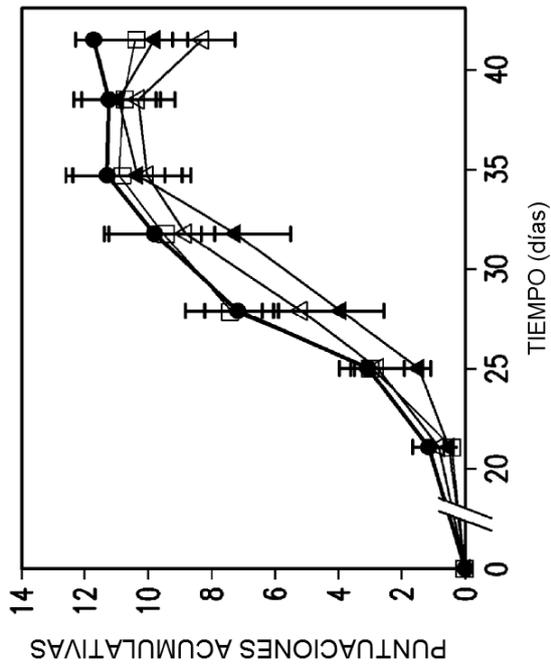


FIG. 10C

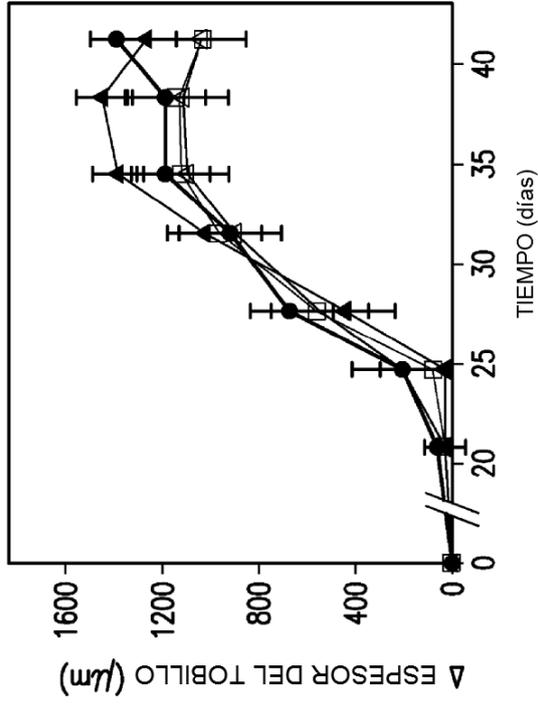


FIG. 10D