(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 668 834**

(51) Int. CI.:

A61K 31/529	(2006.01)	***A61P 35/00***	(2006.01)
C07D 239/42	(2006.01)	***A61P 29/00***	(2006.01)
C07D 487/08	(2006.01)	***A61P 31/00***	(2006.01)
C07D 487/18	(2006.01)	***A61P 37/00***	(2006.01)
C07D 498/08	(2006.01)		
C07D 498/18	(2006.01)		
C07D 513/08	(2006.01)		
C07D 513/18	(2006.01)		
C07D 515/08	(2006.01)		
C07D 295/096	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.09.2009 PCT/US2009/055841**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.03.2010 WO10028116**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2009 E 09792214 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018 EP 2334301**

(54) Título: **Pirimidinas macrociclicas como inhibidores de proteína quinasas**

(30) Prioridad:

08.09.2008 US 191505 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.05.2018

(73) Titular/es:

MERCK SERONO SA (100.0%)
Centre Industriel
1267 Coinsins, Vaud, CH

(72) Inventor/es:

YU, HENRY;
DE SELM, LIZBETH CELESTE;
JIANG, XULIANG;
ASKEW, JR., BENNY C.;
KARRA, SRINIVASA R. y
GOUTOPOULOS, ANDREAS

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

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

Pirimidinas macrociclicas como inhibidores de proteína quinasas

Campo de la invención

La presente invención se relaciona con compuestos de pirimidina macrocíclicos y su uso como agentes farmacológicamente activos capaces de inhibir proteína quinasas y aurora quinasas en particular, con lo que se inhibe la proliferación y crecimiento celulares anormales.

Antecedentes de la invención

Las proteína quinasas representan una gran familia de proteínas que juegan un papel central en la regulación de una amplia variedad de procesos celulares y de esta manera mantienen el control sobre la función celular. Estas quinasas incluyen Akt, Axl, Aurora A, Aurora B, Aurora C, dyrk2, epha2, fgfr3, flt-3, vegfr3, igflr, IKK2, JNK3, Vegfr2, MEK1, MET, P70s6K, Plk1, RSK1, Src, TrkA, Zap70, cKit, bRaf, EGFR, Jak2, P13K, NPM-Alk, c-Abl, BTK, FAK, PDGFR, TAK1, LimK, Flt3, Flt1, PDK1 y Erk, entre otras. La inhibición de dichas quinasas se ha vuelto una herramienta objetivo terapéutica importante.

Muchas enfermedades están relacionadas con respuestas celulares anormales activadas por eventos mediados por proteína quinasas. Estas enfermedades incluyen cánceres, enfermedades autoinmunitarias, inflamatorias, cardiovasculares, neurológicas y neurodegenerativas, alergias y asma, enfermedad de Alzheimer y enfermedades relacionadas con hormonas. En consecuencia, ha existido un esfuerzo sustancial en la química médica para encontrar inhibidores de proteína quinasa que sean eficaces como agentes terapéuticos.

Los compuestos de la presente invención son inhibidores competitivos de ATP novedosos, selectivos y muy potentes de las Aurora quinasas (A, B y C) y las proteína quinasas TrkA, TrkB, Flt3(D835Y)(h), Ret(h), IRAK4(h), FAK(h), KDR9H0, PYK(2)(h) y Tie2(K849w). La familia Aurora de serinas/treonina quinasas conservadas realizan funciones esenciales durante la división celular. Los tres parálogos de mamífero son de secuencias muy similares pero difieren significativamente en su ubicación, función, sustratos y miembros reguladores.

La Aurora A se asocia principalmente con los polos de los husos durante la mitosis, en donde se requiere para separación y maduración del centrosoma (Sausville EA. Natl. Med., (2004) 10:234-235). Aurora A también funciona en la meiosis al promover la maduración del ovocito, extrusión del cuerpo polar, colocación del huso y salida de metafase I. Aurora B es una proteína pasajero cromosómico con funciones múltiples en mitosis. Se requiere para fosforilar histona H3, dirigir condensación y compactar cromosomas normales. También se ha demostrado recientemente que es esencial para biorientación de cromosoma, interacciones de cinetocoro-microtúbulo y el punto de verificación del montaje del huso. Aurora B es esencial para completar la citocinesis. Se conoce mucho menos acerca de Aurora C quinasa, además de lo que se considera como expresado preferencialmente en células meióticas. Las Aurora quinasas parecen proporcionar un nivel adicional de regulación que puede ser esencial para la coreografía de eventos mitóticos.

Las Aurora quinasas se sobreexpresan en ciertos tipos de cánceres que incluyen cánceres de colon, de mama, pancreático, de ovario y otros cánceres de tumores sólidos. Los genes que codifican para las quinasas Aurora A y B tienden a ser amplificados por ciertos tipos de cánceres mientras que los genes que codifican para la Aurora C quinasa se encuentran en una región del cromosoma que está sometida a rearreglo y supresión. Se ha asociado a Aurora A con una diversidad de cánceres malignos que incluyen cáncer de colon primario, colorrectal, de mama, de estómago, de ovario, de próstata y cáncer cervical, neuroblastoma y otros cánceres de tumores sólidos (Warner et al. (2003) Molecular Cancer Therapeutics 2: 589-95). Dado que las Aurora A y B quinasas se encuentran con frecuencia elevadas o sobreexpresadas en cánceres humanos, se vuelven un objetivo atractivo para intervención terapéutica (Mountzios et al., Cancer Treatment Reviews (2008) 34:175-82; Gautschi et al., Clin. Cancer Res. (2008), 14(6):1639-48; Mortlock et al., Current Topics in Medicinal Chemistry (2005), 5:807-21).

La TrkA, o quinasa A relacionada a tropomicina, TrkB y TrkC son, todos miembros de una subfamilia de proteína quinasas importantes para el crecimiento y diferenciación neuronal.

La TrkA es una quinasa receptora de alta afinidad con el factor de crecimiento nervioso (NGF) y también juega un papel vital en la diferenciación y supervivencia neuronal. Se considera que es importante en cánceres, retraso mental e insensibilidad al dolor. Se activa TrkB por "factor neurotrófico derivado del cerebro" o "BDNF" y de igual manera es importante en cánceres y enfermedades que involucran supervivencia neuronal.

La Flt3 es una tirosina quinasa receptora que se expresa en progenitores hematopoyéticos, células precursoras de linfocitos B y células precursoras de macrófagos. Así, Flt3 tiene funciones importantes en la proliferación y supervivencia de progenitores hematopoyéticos, diferenciación celular de macrófagos y diferenciación de células

dendríticas. Se sobreexpresa en leucemia mieloide aguda (AML) y se ha demostrado que está mutada en otras enfermedades hematopoyéticas.

La Ret(h) es una tirosina quinasa de receptores de factores neurotróficos derivados de líneas de neurogliocitos de moléculas de señalización extracelular. Las mutaciones de pérdida de función asociadas con esta familia de quinasas se relacionan con el desarrollo de enfermedad de Hirschsprung, mientras que la sobreexpresión de Ret(h) se relaciona con cánceres, que incluyen carcinoma de tiroide medular, tumores paratiroideos, neoplasias endocrinas tipos II y III y feocromocitoma.

La IRAK4(h), quinasa-4 asociada a receptor de interleuquina-1, es un miembro de la familia IRAK necesario para la activación de la vía de interleuquina-1 (IL-1). Qin et al., han demostrado que la actividad de quinasa de IRAK en IRAK4 son redundantes para señalización mediada por IL-1, pero que se requiere IRAK4 para un reclutamiento eficaz de IRAK al complejo receptor IL-1 (Qin et al., J. Biol. Chem. 279(25): 26748-53 (Junio 18, 2004). Un mal funcionamiento de la vía IL-1 puede resultar en problemas con fiebre e inflamación, deficiencias del sistema inmunitario e infecciones por medio de linfocitos que no funcionen, artritis reumatoide, enfermedad ósea degenerativa y enfermedad de Alzheimer.

La quinasa de adhesión focal, FAK, actúa en la adhesión, movilidad y supervivencia celulares. Es una tirosina quinasa sin receptor que se identificó originalmente como un sustrato para la proteína de oncogen de tirosina quinasa v-src, pero ahora se considera que también juega un papel en el anclaje de citoesqueletos y por lo tanto su asociación con cánceres. La PYK-2 también es un miembro de la familia FAK y se designa por ser una tirosina quinasa con alta concentración de prolina. También se le denomina "tirosina quinasa focal de adhesión relacionada", "quinasa de adhesión celular" y "tirosina quinasa dependiente de calcio", PYK-2 se encuentra en menos tipos de células en comparación con FAK, pero su expresión es alta en células neurales, epiteliales y hematopoyéticas, en células citolíticas naturales, linfocitos B y T y en megacariocitos. De esta manera, juega un papel importante en las respuestas inmunitaria e inflamatoria y en la polarización celular vía reorganización del citoesqueleto en los linfocitos; 15 de agosto del 08).

El KDR o " receptor de dominio de inserto de quinasa" es una tirosina quinasa de receptor tipo III y es ubicua en el cuerpo. Por lo tanto, su sobreexpresión se asocia con cánceres de diversos tipos, artritis reumatoide, enfermedades óseas y mentales, entre otras.

La Tie-2 junto con el miembro conjunto de su familia, Tie-1, es una proteína quinasa receptora que se expresa en el desarrollo de células endoteliales vasculares. La Tie-2 es especialmente importante en la angiogénesis para el desarrollo de redes vasculares entre células endoteliales mientras que Tie-1 es más importante para establecer integridad estructural vascular, cuya pérdida resulta en hemorragia y edema (Sato et al., Nature, 1995, 376(6535):70-74).

Se han reportado un número limitado de compuestos macrocíclicos inhibidores de proteínas quinasas. Por ejemplo Schering AG describe compuestos macrocíclicos de anilino-pirimidina que tienen una porción sulfoximina sustituida y que inhiben selectivamente las quinasas celulares tipo 2 como Aurora quinasas mientras que también actúan como inhibidores selectivos de quinasas de células tipo 1 tales como quinasas dependientes de ciclina (WO 2007/079982). Eisai Co., Ltd reivindica compuestos macrocíclicos que tienen una porción benzoilo opcionalmente sustituida que son útiles en el tratamiento de cánceres malignos, angiogénesis, trastornos inflamatorios y autoinmunes (WO 03/076424). Las proteína quinasas dependientes de ciclina tales como CDK2 y CKD5 se inhiben por derivados macrocíclicos de piridin-pirimidin-amina, como se describe por IRM LLC (WO 04/078682). Abbot Laboratories describe inhibidores de proteína quinasa para tratar cáncer que son derivados de benzodioxatriazaciclico-heptadecino carbonitrilo (US 2005/0215556; WO 05/047294), Bayer Schering Pharma AG describe derivados de benceno ciclo-naftanlenilsulfoximida de pirimidina que son inhibidores selectivos de Aurora quinasa (EP 1 803 723) y Janssen Pharmaceutica N.V. describen macrociclos de 2,4 (4,6)-pirimidina para el tratamiento de cánceres, diabetes, inflamación y artritis (WO 06/061415). Aún otra serie de macrociclos inhibidores de CDK fue divulgada por Schering AG en WO 04/026881.

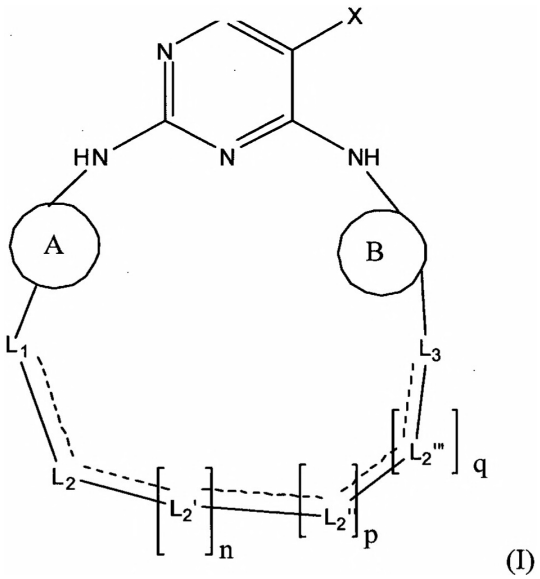
De esta manera, la identificación de inhibidores macrocíclicos adicionales y más eficaces de proteína quinasas y de Aurora quinasas, en particular, es un objetivo de la presente invención. Otro objetivo es proporcionar derivados que inhiban de manera activa la actividad de Aurora quinasa no alterada, no controlada o no regulada.

Estos compuestos y las composiciones farmacéuticas que los comprenden se presentan individualmente o en forma de kit. La presente también contiene métodos para utilizar los mismos para tratar trastornos proliferativos tales como cánceres, psoriasis, infecciones virales y bacterianas, restenosis vascular, enfermedades inflamatorias y autoinmunes que resultan de proliferación celular no regulada y no controlada.

En esta invención se incluyen procedimientos para preparar los compuestos derivados macrocíclicos que inhiben activamente la actividad de Aurora quinasa no regulada.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con compuestos que inhiben, regulan y/o modulan la transducción de señales por Aurora quinasas. La invención también se relaciona con composiciones que comprenden estos compuestos y con los compuestos que se utilizan en el tratamiento de enfermedades y malestares relacionados con Aurora quinasas. En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto que tiene una estructura de acuerdo con la fórmula I:



(I)

en donde:

X es H; halógeno; preferiblemente F; CF_3, CN, NO_2, N(RR'), C(O)N(RR'); C(O)OR; C(O)H; $S(O)_2$; S(OH); S(O); o S(O)NRR';

o

A es arilo, un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

B es un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

-------- representa la presencia o ausencia de un enlace doble;

L_1 y L_3 son, cada uno, O;

L_2, $L_{2'}$, $L_{2''}$ y $L_{2'''}$ es, cada uno de manera independiente, CH_2 o CH;

R y R' es, cada uno de manera independiente, H;

n, p y q es, cada uno de manera independiente, 0 ó 1; o

una sal, hidrato, solvato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una forma de realización preferida, el compuesto de acuerdo con la fórmula I se incorpora en una formulación farmacéutica junto con uno o más diluyentes, excipientes, vehículos, etc., farmacéuticamente aceptables. Los expertos en la técnica reconocerán la superposición en los términos "diluyente", "excipiente" y "vehículo".

En un aspecto preferido de la presente invención, es fenilo sustituido o no sustituido. El grupo fenilo también se puede unir a un carbociclo, heterociclo o arilo con el fin de formar una estructura bicíclica. Un significado particularmente preferido de es fenilo, el cual no está sustituido o está sustituido con CN, OH, F o 4-metil-piperazina.

En otro aspecto preferido de la presente invención, opcionalmente es norbornanilo, norbornenilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentanilo o ciclohexanilo, opcionalmente sustituido. Un significado particularmente preferido de es biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida.

En aún otro aspecto preferido de la presente invención, X es H, CN, NO_2, CF_3, N(RR'); C(O)N(RR'); C(O)OR; C(O)H; $S(O)_2$; S(OH); S(O); S(O)NRR' ,o halo y F, en particular, donde R y R' es, cada uno de manera independiente, H.

La presente invención también abarca un inhibidor de quinasas de acuerdo con la Fórmula I para usar en el tratamiento de un sujeto que necesita inhibir una proteína quinasa.

En una forma de realización preferida, el compuesto de acuerdo con la fórmula I se incorpora en una formulación farmacéutica junto con uno o más diluyentes, excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables y la cual opcionalmente de manera adicional se puede envasar como un kit.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para tratar o evitar una enfermedad o condición que es un miembro que se selecciona de cánceres, formación de tumores, angiogénesis, arteriosclerosis, enfermedades oftalmológicas, enfermedades inflamatorias, artritis y restenosis, entre otros. El método incluye administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal, profármaco, enantiómero, tautómero, hidrato, solvato o mezcla racémica del mismo, farmacéuticamente aceptable.

Las formas de realización adicionales de la presente invención incluyen: un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para usar como medicamento; el uso del compuesto de acuerdo con la Fórmula I en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un sujeto que necesita inhibir una proteína quinasa; y el uso del compuesto de acuerdo con la Fórmula I en la preparación de un medicamento para suprimir o reducir la proliferación celular en cánceres localizados o metastásicos.

La presente invención también abarca un compuesto de acuerdo con la fórmula I o derivados, solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, que incluyen mezclas de los mismos en toda proporción, para uso en tratamientos, por ejemplo para el tratamiento de un sujeto en necesidad de inhibición de una proteína quinasa, en donde el sujeto tiene una enfermedad proliferativa o una inflamatoria.

Además, la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula I junto con un ingrediente activo medicinal adicional para el uso combinado en el tratamiento de un sujeto en necesidad de tratamiento para un mal funcionamiento relacionado con quinasas, y especialmente para enfermedades tales como angiogénesis, formación, crecimiento y propagación de tumores, arteriosclerosis, enfermedades oftalmológicas tales como degeneración macular inducida por la edad, neovascularización coroidal y retinopatía diabética, enfermedades inflamatorias, artritis, trombosis, fibrosis, glomerulonefritis, neurodegeneración, psoriasis, restenosis, sanado de heridas, rechazo de transplantes, enfermedades metabólicas, enfermedades autoinmunitarias, cirrosis, diabetes y enfermedades vasculares e inmunes en mamíferos.

Los compuestos de la presente invención son especialmente útiles como inhibidores de Aurora quinasas para el tratamiento de tumores sólidos caracterizados por tener Aurora quinasas que se expresan fuertemente o que se sobreexpresan. Dichos tumores sólidos incluyen, entre otros, leucemia monocítica, cáncer de cerebro, de mama, pancreático, de ovarios, urogenital, del sistema linfático, de estómago, de laringe y carcinoma de pulmón que incluye adenocarcinoma de pulmón y carcinoma de pulmón microcítico.

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas y métodos para modular y/o inhibir la actividad de Aurora quinasa no regulada o alterada con el fin de tratar o curar enfermedades proliferativas que incluyen todos tipos de cánceres que comprenden administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un inhibidor de quinasa de acuerdo con la fórmula I. En particular, los compuestos de fórmula I son útiles en el tratamiento de ciertas formas de cáncer.

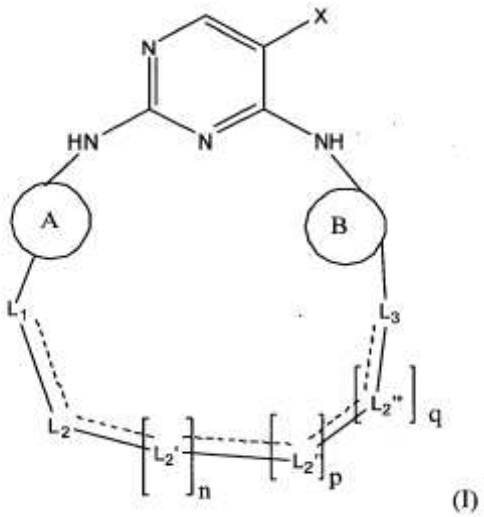
Los compuestos de fórmula I por lo tanto se pueden utilizar para proporcionar efectos aditivos o sinérgicos en ciertas quimioterapias de cáncer existentes y/o se pueden utilizar para restaurar la eficacia de ciertas quimioterapias y

radioterapias existentes contra el cáncer.

Los compuestos de la presente invención tienen una acción antiproliferativa in vivo en un modelo de tumor de xenotransplante por su acción inhibidora en la división celular. Así, cuando se administran a un paciente que tienen una enfermedad hiperproliferativa, estos compuestos inhiben el crecimiento del tumor, reducen la inflamación relacionada con la enfermedad linfoproliferativa, inhiben el rechazo de transplante, inhiben el daño neurológico debido a reparación de tejido, etc. Los presentes compuestos son adecuados para propósitos profilácticos o terapéuticos. La prevención de proliferación se obtiene por administración de los compuestos de acuerdo con la invención antes del desarrollo de la enfermedad manifiesta, por ejemplo para evitar el crecimiento de tumores, evitar el crecimiento metastásico, disminuir la restenosis asociada con cirugía cardiovascular, etc. Como alternativa, los compuestos se utilizan para el tratamiento de enfermedades que ya se están desarrollando al estabilizar o mejorar los síntomas clínicos del paciente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con compuestos que inhiben, regulan y/o modulan la transducción de señales por proteína quinasas y por Aurora, TrkA, TrkB, Flt3(D835Y)(h), Ret(h), IRAK4(h), FAK(h), KDR9H0, PYK(2)(h) y Tie2(K849w), en particular. La invención también se relaciona con composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y con los compuestos que se utilizan en el tratamiento de enfermedades y malestares relacionados con quinasas. En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto que tiene la estructura de acuerdo con la Fórmula 1:



(I)

en donde:

X es H; halógeno, preferiblemente F; CF_3; CN, NO_2, N(RR'); C(O)N(RR'); C(O)OR; C(O)H; $S(O)_2$; S(OH); S(O); o S(O)NRR';

o

es arilo, un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

es un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

-------- representa la presencia o ausencia de un enlace doble;

L_1 y L_3 son, cada uno, O;

L_2, $L_{2'}$, $L_{2''}$ y $L_{2'''}$ es, cada uno de manera independiente, CH_2 o CH;

R y R' es, cada uno de manera independiente, H;

n, p y q es, cada uno de manera independiente, 0 ó 1; o

una sal, hidrato, solvato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una forma de realización preferida, el compuesto de acuerdo con la fórmula I se incorpora en una formulación farmacéutica junto con uno o más diluyentes, excipientes, vehículos, etc., farmacéuticamente aceptables. Los expertos en la técnica reconocerán la superposición en los términos "diluyente", "excipiente" y "vehículo".

En un aspecto preferido de la presente invención,

es fenilo sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, los sustituyentes preferidos son CN, CH_3-C(=O)-NH- o un heterociclo saturado o insaturado opcionalmente sustituido. El grupo fenilo también se puede unir a un carbociclo, heterociclo o arilo con el fin de formar una estructura bicíclica o tricíclica.

En otro aspecto preferido de la presente invención,

es norbornanilo, norbornenilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentanilo o ciclohexanilo, opcionalmente sustituidos. Los sustituyentes opcionales incluyen ácido carboxílico, amida de ácido carboxílico, etano, etileno y (2-hidroxi)-etoxi.

En una sexta forma de realización de la invención,

es fenilo,;

es ciclohexano; X es F; L_1 y L_3 son ambos O; L_2 y L_3 son ambos CH; $L_{2"}$ es CH_2; n y p son ambos 1; y q es O.

En una forma de subrealización de la sexta forma de realización de la invención, L_1 y L_3 son ambos O; L_2 y L_2''' son ambos CH_2;·y L_2·y $L_{2"}$ son ambos CH.

En una tercera forma de subrealización de la sexta forma de realización de la invención, L_1 y L_3 son ambos O; L_2, $L_{2'}$·, $L_{2"}$ y L_2''' son todos CH_2.

La presente invención también abarca un inhibidor de quinasas de acuerdo con la Fórmula I para usar en el tratamiento de un sujeto que necesita inhibir una proteína quinasa que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un inhibidor de quinasas de acuerdo con la Fórmula I.

En una forma de realización preferida, el compuesto de acuerdo con la fórmula 1 se incorpora en una formulación farmacéutica junto con uno o más diluyentes, excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables y la cual opcionalmente de manera adicional se puede envasar como un kit. La presente invención también abarca un compuesto de acuerdo con la fórmula I o derivados farmacéuticamente aceptables, solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de los mismos; que incluyen mezclas de los mismos en todas proporciones, para uso en tratamientos, por ejemplo para tratar a un sujeto en necesidad de inhibir una proteína quinasa, en donde el sujeto tiene una enfermedad proliferativa o una inflamatoria.

Aquí se incluye una enfermedad o condición se selecciona entre cánceres, formación de tumores, angiogénesis, arteriosclerosis, enfermedades oftalmológicas, inflammatory enfermedades, artritis, edema y restenosis, entre otros.

Las formas de realización adicionales de la presente invención incluyen: un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para usar como un medicamento; el uso del compuesto de acuerdo con la Fórmula I en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un sujeto que necesita inhibir una proteína quinasa; y el uso del compuesto de acuerdo con la Fórmula I en la preparación de un medicamento para suprimir o reducir la proliferación celular en cánceres de un solo sitio o metastásicos.

La presente invención también se relaciona con un compuesto de fórmula I junto con un ingrediente activo medicinal adicional para el uso combinado en el tratamiento de un sujeto en necesidad de tratamiento para un mal funcionamiento relacionado con quinasa, y especialmente para enfermedades tales como angiogénesis, formación, crecimiento y propagación de tumores, arteriosclerosis, enfermedades oftalmológicas tales como degeneración macular inducida por la edad, neovascularización coroidal y retinopatía diabética, enfermedades inflamatorias, artritis, trombosis, fibrosis, glomerulonefritis, neurodegeneración, psoriasis, restenosis, sanado de heridas, rechazo de transplantes, enfermedades metabólicas, enfermedades autoinmunitarias, cirrosis, diabetes y enfermedades vasculares e inmunes en mamíferos.

Los compuestos de la presente invención son especialmente útiles como inhibidores de ATP de Aurora, TrkA, TrkB, Flt3(D835Y)(h), Ret(h), IRAK4(h), FAK(h), KDR9H0, PYK(2)(h) y Tie2(K849w) quinasas para el tratamiento de tumores sólidos caracterizados por tener una quinasa que se expresa fuertemente o que se sobreexpresa. Dichos tumores sólidos incluyen, entre otros, leucemia mieloide monocítica y aguda, cáncer de cerebro, de mama, pancreático, de ovario, urogenital, del sistema linfático, de estómago, de laringe y carcinoma pulmonar que incluye adenocarcinoma pulmonar y carcinoma pulmonar microcítico.

Además, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas y métodos para modular y/o inhibir la actividad de Aurora, TrkA, TrkB, Flt3(D835Y)(h), Ret(h), IRAK4(h), FAK(h), KDR9H0, PYK(2)(h) y/o Tie2(K849w) quinasa no regulada o alterada con el fin de tratar o curar enfermedades proliferativas que incluyen todos tipos de cánceres que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un inhibidor de quinasa de acuerdo con la fórmula I. En particular, los compuestos de fórmula I son útiles en el tratamiento de ciertas formas de cáncer. Los compuestos de fórmula I por lo tanto se pueden utilizar para proporcionar efectos aditivos o sinérgicos en ciertas quimioterapias de cáncer existentes y/o se pueden utilizar para restaurar la eficacia de ciertas quimioterapias y radioterapias existentes contra el cáncer.

Los compuestos de la presente invención son especialmente útiles como inhibidores de quinasa para el tratamiento de tumores sólidos caracterizados por tener quinasas que se expresan fuertemente o que se sobreexpresan. Dichos tumores sólidos incluyen, entre otros, leucemia monocítica o mieloide aguda, cáncer de cerebro, de mama, pancreático, de ovarios, urogenital, de tiroides y paratiroides, del sistema linfático, de estómago, de laringe y carcinoma de pulmón que incluye adenocarcinoma de pulmón y carcinoma de pulmón microcítico.

Los compuestos de la presente invención tienen una acción antiproliferativa in vivo en un modelo de tumor de xenotransplante por su acción inhibidora en la división celular. De este modo, cuando se administran a un paciente que tiene una enfermedad hiperproliferativa, estos compuestos inhiben el crecimiento de tumores, reducen inflamación asociada con una enfermedad linfoproliferativa, inhiben en el rechazo de transplantes, inhiben el daño neurológico debido a reparación de tejido, etc. Los presentes compuestos son adecuados para propósitos profilácticos o terapéuticos. La prevención de proliferación se obtiene por administración de los compuestos de acuerdo con la invención antes del desarrollo de una enfermedad manifiesta, por ejemplo, para evitar el crecimiento de tumores, evitar el crecimiento metastásico, disminuir restenosis asociada con cirugía cardiovascular, etc. De manera alternativa, los compuestos se utilizan para el tratamiento de enfermedades que se están desarrollando al estabilizar o mejorar los síntomas clínicos del paciente.

I. Definiciones

Según se usa en la presente, una descripción de los compuestos de la invención en cada caso incluye sales, solvatos, hidratos, profármacos, tautómeros, enantiómeros, estereoisómeros, análogos o derivados del mismo, farmacéuticamente aceptables, que incluyen mezclas de los mismos en cualquier proporción.

Cuando se especifican grupos sustituyentes por sus fórmulas químicas convencionales, escritas de izquierda a derecha, opcionalmente abarcan sustituyentes que resultan de escribir la estructura de derecha a izquierda, por ejemplo $-CH_2O-$ que opcionalmente también se escribe $-OCH_2-$.

El término "alquilo", por si mismo o como parte de otro sustituyente, a menos que se indique de otra manera, significa un radical hidrocarburo no ramificado (lineal) o de cadena ramificada o cíclico, o combinaciones de los mismos que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos. El término de manera preferible indica metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o terbutilo, pentilo o hexilo. De uno a siete átomos de hidrógeno en una cadena alquilo, como se define, pueden estar sustituidos por F, Cl y/o Br y/o uno o dos grupos CH_2 pueden estar sustituidos por grupos O, S, SO, SO_2 y/o CH=CH.

El término "alquileno" indica una cadena no ramificada "lineal" o ramificada, opcionalmente sustituida, que en si misma o como parte de otro sustituyente significa un radical divalente derivado de un alcano, como se ejemplifica por $-CH_2CH_2CH_2-$. El término "alquileno" preferiblemente indica metileno, etileno, propileno, isopropileno, butileno, isobutileno, secbutileno o terbutileno, pentileno, 1-, 2- ó 3-metilbutileno, 1,1-, 1,2- o 2,2-dimetilpropileno, 1-etilpropileno, hexileno, 1-, 2-, 3- ó 4-metilpentileno, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- o 3,3-dimetilbutileno, 1- o 2-etilbutileno, 1-etil-1-metilpropileno, 1-etil-2-metilpropileno, 1,1,2- o 1,2,2-trimetilpropileno o difluorometileno. Se prefiere especialmente un alquileno que tiene 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de C, preferiblemente metileno, etileno, propileno, isopropileno, butileno, isobutileno, secbutileno, terbutileno, pentileno, hexileno, difluorometileno, tetrafluoroetileno o 1,2-difluoroetileno.

Un "alquileno cíclico" ("cicloalquileno") preferiblemente indica ciclopropileno, ciclobutileno, ciclopentileno, ciclohexileno o cicloheptileno.

El término "arilo" significa, a menos que se indique de otra manera, un anillo único o anillos múltiples aromáticos

poliinsaturados, preferiblemente de 1 a 3 anillos, los últimos de los cuales se fusionan o se unen covalentemente. El término "arilo" indica, por ejemplo, fenilo, o-, m- o p-tolilo, o-, m- o p-etilfenilo, o-, m- o p-propilfenilo, o-, m- o p-isopropilfenilo, o-, m- o p-terbutilfenilo, o-, m- o p-hidroxifenilo, o-, m- o p-nitrofenilo, o-, m- o p-aminofenilo, o-, m- o p-(N-metilamino)fenilo, o-, m- o p-(N-metilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-acetamidofenilo, o-, m- o p-metoxifenilo, o-, m- o p-etoxifenilo, o-, m- o p-etoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-(N-etilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dietilamino)fenilo, o-, m- o p-fluorofenilo que incluye difluorofenilo, o-, m- o p-bromofenilo que incluyen dibromofenilo, o-, m- o p-clorofenilo que incluyen diclorofenilo, o-, m- o p-(metilsulfonamido)fenilo, o-, m- o p-(metilsulfonil)fenilo, o-, m- o p-metilsulfanilfenilo, o-, m- o p-cianofenilo, o-, m- o p-carboxifenilo, o-, m- o p-metoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-formilfenilo, o-, m- o p-acetilfenilo, o-, m- o p-aminosulfonilfenilo, o-, m- o p-(morfolin-4-ilcarbonil)fenilo, o-, m- o p-(morfolin-4-ilcarbonil)fenilo, o-, m- o p-(3-oxomorfolin-4-il)fenilo, o-, m- o p-(piperidinilcarbonil)fenilo, o-, m- o p-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenilo, o-, m- o p-[3-(N,N-dietilamino)propoxi]fenilo, o-, m- o p-[3-(3-dietilamino-propil)ureido]fenilo, o-, m- o p-(3-dietilaminopropoxi-carbonilamino)fenilo, de manera preferible adicional, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-difluorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-diclorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-dibromofenilo, 2,4- o 2,5-dinitrofenilo, 2,5- o 3,4-dimetoxifenilo, 3-nitro-4-clorofenilo, 3-amino-4-cloro, 2-amino-3-cloro, 2-amino-4-cloro, 2-amino-5-cloro o 2-amino-6-clorofenilo, 2-nitro-4-N,N-dimetilamino- o 3-nitro-4-N,N-dimetilaminofenilo, 2,3-diaminofenilo, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6 -, 2,4,6- o 3,4,5-triclorofenilo, 2,4,6-trimetoxifenilo, 2-hidroxi-3,5-diclorofenilo, p-yodofenilo, 3,6-dicloro-4-aminofenilo, 4-fluoro-3-clorofenilo, 2-fluoro-4-bromofenilo, 2,5-difluoro-4-bromofenilo, 3-bromo-6-metoxifenilo, 3-cloro-6-metoxifenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 3-amino-6-metilfenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo o 2,5-dimetil-4-clorofenilo.

En una forma de realización preferida, "arilo" indica preferiblemente un fenilo que está no sustituido o mono-, di- o trisustituido independientemente por uno o más halógenos, OR, CN, $CONH_2$ o un heterociclo en donde R es H, alquilo o una cadena alquilo que comprende uno o más heteroátomos; o en donde los sustituyentes se unen con los átomos de carbono del fenilo al cual están unidos para formar un segundo anillo, con lo que se proporciona una estructura bicíclica.

El término "heteroarilo" se refiere a cualquier anillo arilo que contiene de uno a cuatro heteroátomos que se seleccionan de N, O, S, Si, P y B, en donde los átomos de nitrógeno y azufre opcionalmente están oxidados y uno o varios átomos de nitrógeno opcionalmente están cuaternizados. Un grupo heteroarilo se puede unir al resto de la molécula a través de un carbono o un heteroátomo. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo y heteroarilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, 5-indolilo, 7-azaindol, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo, 6-quinolilo, 1-piperidinilo, 3-benzofuranilo y 4-benzodioxinilo. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos arilo y heteroarilo indicados previamente se seleccionan del grupo de sustituyentes aceptables que se describe a continuación.

Los términos “alcoxilo”, “alquilamino” y “alquiltiol” (o tioalcoxilo) se usan en su sentido convencional, y hacen referencia a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula por medio de un átomo de oxígeno, un grupo amino o un átomo de azufre, respectivamente.

Los sustituyentes para los radicales alquilo y heteroalquilo incluyen aquellos grupos con frecuencia denominados como alquenilo, heteroalquileno, heteroalquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalquenilo y heterocicloalquenilo generalmente se denominan como "sustituyentes del grupo alquilo" y pueden ser uno o más de una diversidad de grupos que se seleccionan pero que no se limitan a "arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido y $-R_1$, en donde R_1 es -OH, O-alquilo, -CN, -halo, $-C(O)OH$, $-C(O)O$-(alquilo), $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH$(alquilo), $-C(O)N$(alquilo)$_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2O$(alquilo), $-CH_2NH_2$, $-CH_2NH$(alquilo), $-CH_2N$(alquilo)$_2$, $-SO_2OH$, $-SO_2O$(alquilo), $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH$(alquilo), y $-SO_2N$(alquilo)$_2$. De la discusión anterior de sustituyentes, una persona experta en la técnica comprenderá que el término "alquilo" significa la inclusión de grupos que incluyen átomos de carbono unidos a grupos diferentes a los grupos hidrógeno tales como haloalquilo (por ejemplo $-CF_3$ y $-CH_2CF_3$) y acilo (por ejemplo $-C(O)CH_3$, $-C(O)CF_3$, $-C(O)CH_2OCH_3$ y similares).

De una manera similar a los sustituyentes descritos para el radical alquilo, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo se denominan genéricamente como "sustituyentes del grupo arilo". Los sustituyentes se seleccionan, por ejemplo de alquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, -OH, -O-alquilo, -CN, -halo, $-C(O)OH$, $-C(O)O$(alquilo), $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH$(alquilo), $-C(O)N$(alquilo)$_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2O$(alquilo), $-CH_2NH_2$, $-CH_2NH$(alquilo), $-CH_2N$(alquilo)$_2$, $-SO_2OH$, $-SO_2O$(alquilo), $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH$(alquilo), y $-SO_2N$(alquilo)$_2$.

Según se usa en la presente, el término "acilo" describe un sustituyente que tiene un residuo carbonilo C(O)R. Las especies ejemplares para R incluyen H, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido y heterocicloalquilo sustituido o no sustituido.

Según se usa en la presente, el término "sistema de anillo fusionado" significa por lo menos dos anillos, en donde cada anillo tiene por lo menos dos átomos en común con otro anillo. Los "sistemas de anillos fusionados" pueden incluir anillos aromáticos así como no aromáticos. Los ejemplos de "sistemas de anillos fusionados" son naftalenos, indoles, quinolinas, cromenos, norbornanos y similares.

El término "tratamiento" como se utiliza en la presente se refiere tanto a la prevención de una enfermedad o tratamiento particular de una condición preexistente.

La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" como se utiliza en la presente, significa que una cantidad y un compuesto, material o composición que comprende un compuesto de la presente invención la cual es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado por bloqueo o inhibición simultáneos de los receptores de Aurora quinasa en un mamífero, por lo que se bloquean las consecuencias biológicas de esa vía en las células tratadas con una relación razonable entre el beneficio y el riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico. Una cantidad terapéuticamente eficaz típica varía entre aproximadamente 0,1-1000 mg, de manera preferible 0,1-500 mg.

El término “sales farmacéuticamente aceptables” abarca las sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares hallados en los compuestos que se describen en la presente. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, es posible obtener sales de adición básica poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, pura o en un solvente inerte apropiado. Los ejemplos de sales de adición básica farmacéuticamente aceptables incluyen una sal de sodio, potasio, calcio, amonio, amina orgánica o magnesio, o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, es posible obtener sales de adición ácida poniendo en contacto la forma neutra de estos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, puro o en un solvente inerte. Los ejemplos de sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen los que derivan de ácidos orgánicos, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, carbónico monoácido, fosfórico, fosfórico monoácido, fosfórico diácido, sulfúrico, sulfúrico monoácido, iodhídrico o fosforoso y semejantes, y también las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos, tales como ácido acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencensulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metansulfónico y semejantes. También se incluyen las sales de aminoácidos, tales como arginato y semejantes, y sales de ácidos orgánicos, tales como ácido glucurónico o galacturónico, y semejantes (véase, por ejemplo, Berge et al., J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19). Algunos compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades básicas y ácidas, que permiten que los compuestos sean convertidos en sales de adición básica o ácida.

Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar preferiblemente poniendo la sal en contacto con una base o un ácido, y aislando el compuesto original de forma convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como su solubilidad en solventes polares, pero en otros aspectos las sales son equivalentes a la forma original del compuesto a los efectos de la presente invención.

Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas y formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se interpreta que están incluidas dentro del alcance de la presente invención. Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son de utilidad en los métodos contemplados en la presente invención, y se interpreta que están dentro del alcance de la presente invención. El término "compuesto de una sal, hidrato, forma polimórfica o solvato farmacéuticamente aceptable de un compuesto" se pretende que incluya el significado de la conjunción "o" y se considera que están incluidos todos los materiales que satisfacen más o uno de los criterios establecidos, por ejemplo que se abarque un material que es tanto una sal como un solvato.

Según se usa en la presente, el término "heteroátomo" incluye oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S), silicio (Si), boro (B) y fósforo (P).

El término "heteroalquilo" en si mismo o combinado con otros términos significa, a menos que se indique en otro sentido, una cadena lineal o ramificada estable, un radical de hidrocarburo cíclico o combinaciones de los mismos, que consisten del número indicado de átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo que se selecciona del grupo que consiste de O, N, Si y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre opcionalmente se pueden oxidar y el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede estar cuaternizado. Uno o varios de los heteroátomos de O, N, S y Si pueden estar sustituidos en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a $-CH_2-CH_2-O-CH_3$-, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-S-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2$, $-S(O)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$, $-CH=CH-O-CH_3$, $-Si(CH_3)_3$, $-CH_2-CH=N-OCH_3$ y $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$. Puede haber hasta dos heteroátomos consecutivos, tal como, por ejemplo, $-CH_2-NH-OCH_3$ y $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$. De manera similar, el término "heteroalquileno", en si mismo o como parte de otro sustituyente significa un radical divalente derivado de heteroalquilo, como se ejemplifica, pero no limitado por $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ y $-CH_2-S-CH_2--CH_2-NH-CH_2-$. Para los grupos de heteroalquileno, los

heteroátomos también pueden ocupar cualquiera o ambos extremos de la cadena (por ejemplo, alquilenoxi, alquilendioxi, alquilenamino, alquilendiamino y semejantes). Adicionalmente, para los grupos enlazantes alquileno y heteroalquileno, no se implica orientación del grupo enlazante por la dirección en la cual se escribe la fórmula del grupo conector. Por ejemplo, la fórmula $-CO_2R'-$ representa tanto -C(O)OR' y -OC(O)R'.

Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo" en si mismos o combinados con otros términos representan, a menos que se indique en otro sentido, versiones cíclicas de "alquilo" y "heteroalquilo" respectivamente. De manera adicional, para heterocicloalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición en la cual el heterociclo está unido al resto de la molécula. Un sustituyente "cicloalquilo" o "heterocicloalquilo" se puede unir al resto de la molécula directamente o a través de un enlazante, en donde el enlazante preferiblemente es alquilo. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo, norbornanilo, norborneno y similares. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo, norbornanilo, norborneno y similares. Los ejemplos de heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahidrofurano-2-ilo, tetrahidrofurano-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares.

Los términos “halo” o “halógeno”, por sí solos o como parte de otro sustituyente, y a menos que se indique lo contrario, denotan un átomo de flúor, cloro, bromo o iodo. Además, los términos tales como "haloalquilo", pretenden incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, el término "haloalquilo de 1 a 4 átomos de carbono" significa la inclusión, pero sin limitación de trifluorometilo, difluorometilo, fluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo y similares.

Los términos "TEA", "DMF", "LDA", "DCM" y "TFA" utilizados en la presente como reactivos en la síntesis de los compuestos de la invención significan "tetraetilamoniA", "N,N-dimetilsulfonamida", "diisopropilamina de litio", "diclorometano" y "ácido trifluoroacético", respectivamente.

Algunos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o enlaces dobles; los racematos, diastereoisómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos se pueden preparar utilizando sintonas quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver (separar) utilizando técnicas convencionales. Cuando los compuestos que se describen en la presente contienen dobles enlaces olefínicos, u otros centros de asimetría geométrica y a menos que se especifique de otra manera, se pretende que los compuestos incluyan ambos isómeros geométricos E y Z. De igual manera, se incluyen todas las formas tautoméricas.

El término “huésped” o "paciente en necesidad del mismo", como se utiliza en la presente, puede ser cualquier especie de mamífero, por ejemplo una especie de primate, particularmente humanos, roedores; conejos; caballos, vacas, borregos, perros, gatos, etc. Los modelos animales son de interés para tratamiento veterinario y para investigaciones experimentales, suministrando un modelo para el tratamiento de enfermedades humanas.

La susceptibilidad de una célula particular al tratamiento con los compuestos de acuerdo con la invención se determinó mediante pruebas in vitro. Típicamente, un cultivo de las células se combina con un compuesto de acuerdo con la invención en diversas concentraciones durante un período de tiempo que es suficiente para permitir que los agentes activos induzcan muerte celular o que inhiban el desplazamiento, habitualmente entre aproximadamente una hora y una semana. Las pruebas in vitro se llevan a cabo utilizando células cultivadas de una muestra de biopsia. Se cuentan las células viables que permanecen después del tratamiento.

La dosificación del medicamento depende del compuesto específico utilizado, la enfermedad específica, el estado del paciente, etc. Una dosis terapéutica típicamente es suficiente para reducir considerablemente la población de células no deseadas en el tejido objetivo mientras se mantiene la viabilidad del paciente. El tratamiento generalmente continúa hasta que se ha producido una reducción en la población de células, por ejemplo, de por lo menos aproximadamente 50% de reducción en la carga de células y puede continuar hasta que esencialmente no haya más células no deseadas detectadas en el cuerpo.

II. Composiciones farmacéuticas

Aunque los compuestos de la presente invención se pueden administrar como una sustancia química cruda, es preferible presentarla como una composición farmacéutica. De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I o fórmula Ia, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más vehículos farmacéuticos y opcionalmente uno o más ingredientes terapéuticos. Uno o varios vehículos son "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicar a quien reciba la misma. El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye vehículos, diluyentes, excipientes y otros elementos apropiados para incorporación en una formulación farmacéutica.

Una formulación del compuesto o composición incluye cualquier vía de administración parenteral (que incluye subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, peritoneal e intraarticular), rectal, iontoforética, intranasal, por inhalación y oral (que incluye las administraciones dérmica, bucal, sublingual e intraocular). La ruta más adecuada dependerá de la condición y trastorno de quien reciba el medicamento. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en formas de dosificación unitarias y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en el arte de la farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo ("ingrediente activo") con el vehículo que constituye uno o más ingredientes adicionales. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego dando forma al producto en la formulación deseada, de ser necesario. Las formulaciones orales son bien conocidas por los expertos en el ámbito y los métodos generales para su preparación se encuentran en cualquier libro de texto escolar de farmacia convencional, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy., A. R. Gennaro, ed. (1995), la totalidad del cual se incorpora en la presente como referencia en la presente.

Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de fórmula I o de fórmula Ia se pueden presentar convenientemente en una forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis eficaz o una fracción apropiada de la misma del ingrediente activo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La magnitud de una dosis profiláctica o terapéutica típicamente varía con la naturaleza y gravedad de la condición que se va a tratar y la ruta de administración. La dosis y quizás también la frecuencia de dosificación variarán asimismo de acuerdo con la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual. En general, la dosis diaria total varía de aproximadamente 0,1 mg al día a aproximadamente 7000 mg al día, de manera preferible de aproximadamente 1 mg al día a aproximadamente 100 mg al día y de manera más preferible de aproximadamente 25 mg al día hasta de aproximadamente 50 mg al día en una dosis o en dosis divididas. En algunas formas de realización, la dosis diaria total puede variar de aproximadamente 50 mg a de aproximadamente 500 mg al día, y preferiblemente de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg al día. Se recomienda adicionalmente que en niños, pacientes de más de 65 años de edad y aquellos con función renal o hepática dañada inicialmente reciben dosis bajas y que la dosificación se titule en base en las respuestas individuales y/o las concentraciones en sangre. En algunos casos puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos rangos como resultará evidente para los especialistas en la técnica. Además, se hace notar que el clínico o médico a cargo sabrá cómo y cuándo interrumpir, ajustar o terminar la terapia de acuerdo con la respuesta de cada paciente individual.

Las formulaciones de la presente invención apropiadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o tabletas, cada una de las cuales contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo; como un polvo o como gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también se puede presentar como un bolo, electuario o pasta.

Un comprimido se puede elaborar al comprimir o moldear el compuesto de fórmula I, opcionalmente utilizando uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, lubricador, agente tensioactivo o dispersante. Se pueden preparar comprimidos moldeados efectuando un moldeo de una mezcla del compuesto en polvo, humedecido con un diluyente líquido inerte, en una máquina apropiada. Opcionalmente, los comprimidos se pueden recubrir o marcar y se pueden formular para proporcionar una liberación sostenida, retardada o controlada del ingrediente activo en la misma. Los sistemas de suministro de medicamento de liberación sostenida orales y parenterales son bien conocidos por aquellos expertos en la técnica y los métodos generales para obtener liberación sostenida de los medicamentos administrados por vía oral o parenteral se encuentran, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, páginas 1660-1675 (1995). Debe entenderse que además de los ingredientes mencionados particularmente en lo anterior, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en el ámbito al considerar el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

Las formulaciones para administración parenteral incluyen soluciones acuosas y no acuosas para inyección estériles las cuales pueden contener antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos y solutos que vuelven a la formulación isotónica con la sangre del receptor propuesto. Las formulaciones para administración parenteral también incluyen suspensiones estériles acuosas y no acuosas las cuales pueden incluir agentes que mejoran la suspensión y agentes espesantes, mientras que las formulaciones para administración oral también pueden incluir agentes saborizantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiples, por ejemplo en ampolletas y frascos sellados y se pueden almacenar en condición liofilizada que requiere únicamente la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo solución salina, solución salina amortiguada con fosfato (PBS) o similar, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles, del tipo que se describió previamente. Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con los vehículos habituales tales como manteca de cacao o polietilenglicol. Las formulaciones para administración tópica en la boca, por ejemplo por vía

bucal o sublingual, incluyen grageas que comprenden al ingrediente activo en una base con sabor tal como sacarosa y goma acacia o tragacanto y pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma acacia.

El vehículo farmacéuticamente aceptable puede tomar una amplia variedad de formas, en base en la vía deseada para administración, por ejemplo oral o parenteral (que incluye intravenosa). Al preparar la composición para forma de dosificación oral, se puede utilizar cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, conservadores y agentes colorantes en el caso de una preparación líquida oral, que incluyen suspensión, elíxires y soluciones. Los vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes granulantes, lubricantes, aglutinantes y agentes desintegrantes se pueden utilizar en el caso de preparaciones sólidas orales tales como polvos, cápsulas y comprimidos oblongos, en donde se prefiere la preparación oral sólida con respecto a las preparaciones líquidas. Las preparaciones orales sólidas preferidas son comprimidos o cápsulas debido a su facilidad de administración. Si se desea, se pueden recubrir los comprimidos utilizando técnicas acuosas o no acuosas estándar. También se pueden utilizar las formas de dosificación de liberación sostenida oral o parenteral.

Las formulaciones ejemplares son bien conocidas por los expertos en la técnica y los métodos generales para prepararlas se encuentran en cualquier libro de texto escolar de farmacia convencional, por ejemplo, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21st, Ed., (1995) Lippincott.

Un aspecto de la presente invención contempla el tratamiento de la enfermedad/condición con el agente farmacéuticamente activo que se puede vender en forma de kit. El kit comprende un compuesto de la presente invención contenido dentro de una jeringa, caja, bolsa o similar. Típicamente, el kit comprende instrucciones para la administración del compuesto. La forma del kit es particularmente ventajosa cuando se venden concentraciones de dosificación y/o formas diferentes (por ejemplo oral y parenteral) o cuando se desea un ajuste o titulación de los componentes individuales de la combinación deseada por el médico que prescribe o cuando un compuesto de la presente invención se va a administrar combinado con un ingrediente farmacéuticamente activo adicional.

Un ejemplo de un conjunto de elementos con dichas características es un denominado envase de tipo blíster. Los envases tipo ampolla son bien conocidos en la industria del envasado, y se usan ampliamente para envasar formas de dosificación farmacéutica unitarias (tabletas, cápsulas y semejantes). Generalmente consisten en una lámina de un material relativamente rígido, recubierto con una lámina de un material plástico preferiblemente transparente. Durante el proceso de envasado, se forman concavidades en la lámina plástica. Las concavidades tienen el tamaño y la forma de los comprimidos o las cápsulas que se van a envasar. Los comprimidos o las cápsulas se colocan en las concavidades y se sella la lámina de material relativamente rígido contra la lámina plástica, en la cara opuesta a la dirección en la que se hubieron formado las concavidades. La información de dosificación particular normalmente se estampa en cada empaque tipo blíster.

En otra forma de realización específica de la invención se proporciona un dispensador diseñado para suministrar las dosis diarias, una a la vez, en el orden de su uso propuesto.

III. Compuesto de la Fórmula I para uso en tratamiento o prevención

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad o condición que es un miembro que se selecciona de un mal funcionamiento relacionado con quinasa y especialmente para enfermedades tales como angiogénesis, cánceres, formación de tumor, crecimiento y propagación, arteriosclerosis, enfermedades oftalmológicas, tales como degeneración macular inducida por la edad, neovascularización coroidea y retinopatía diabética, enfermedades inflamatorias, artritis, trombosis, fibrosis, glomerulonefritis, neurodegeneración, psoriasis, restenosis, sanado de heridas, rechazo de transplantes, enfermedades metabólicas, enfermedades autoinmunes, enfermedades hematológicas, cirrosis, diabetes y enfermedades vasculares e inmunes en mamíferos. El uso incluye administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal, hidrato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los sujetos susceptibles a tratamiento de acuerdo con la presente invención incluyen humanos (pacientes) y otros mamíferos en necesidad de tratamiento para la condición indicada.

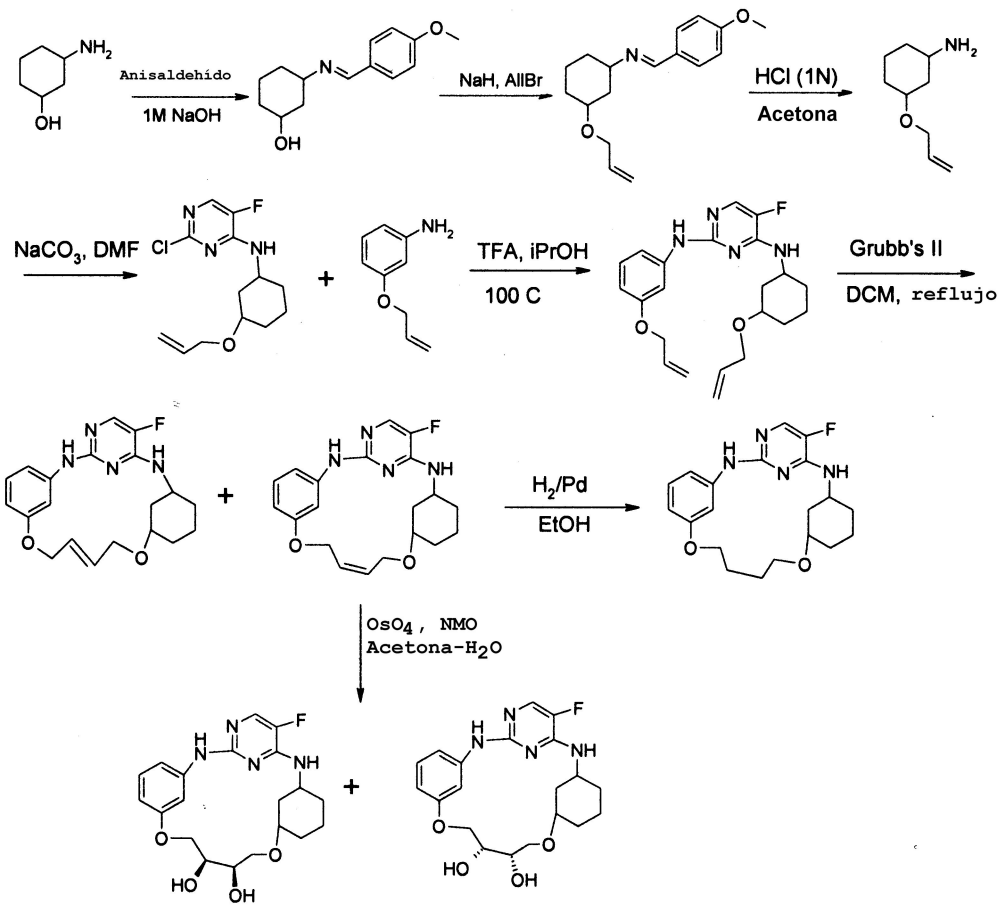
Los compuestos de la invención poseen características farmacológicas únicas con respecto a la inhibición de división celular e influencia de la actividad de las enzimas Aurora quinasa en células. Por lo tanto, estos compuestos son eficaces para tratar condiciones y trastornos, especialmente tumores y trastornos relacionados con cáncer los cuales son modulados por la actividad de Aurora quinasa. En una forma de realización, los compuestos de la invención se relacionan con efectos secundarios disminuidos, en comparación con otros tratamientos estándar actuales.

Los compuestos de la invención típicamente son más selectivos que los medicamentos anticancerígenos conocidos y demuestran una mayor selectividad para inhibir la actividad de Aurora quinasa. Los compuestos también muestran un perfil de actividad ventajoso que incluyen buena biodisponibilidad. En consecuencia, proporcionan ventajas sobre muchos métodos conocidos en la técnica para tratar trastornos relacionados con actividad de Aurora quinasa no regulada o alterada.

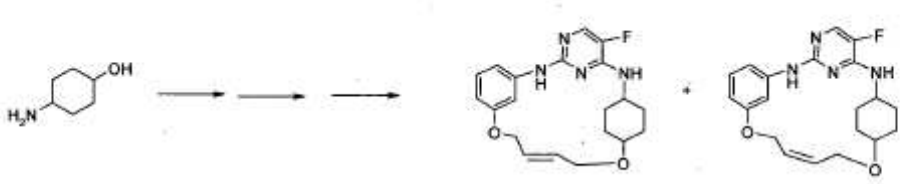
IV. Síntesis generales

Los compuestos de la invención se preparan en general por métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica para sintetizar compuestos análogos. Estos se ilustran por los esquemas generales indicados en lo siguiente y los ejemplos de preparación que siguen. La mayor parte de los materiales iniciales están disponibles comercialmente de compañías proveedoras como Aldrich Chemical Co. o Sigma Chemical Company, como ejemplos. Los compuestos que no están disponibles comercialmente se pueden sintetizar por aquellos expertos en la técnica siguiendo los procedimientos indicados en las referencias tales como "Organic Reactions," Volúmenes 1-40, John Wiley & Sons (1991); "Rodd's Chemistry of Carbon Compounds," Volúmenes 1-5 and Suppl. Elsevier Science Publishers (1989); "Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis," Volúmenes 1-15, John Wiley & Sons (1991); Advanced Organic Chemistry," Jerry March, John Wiley & Sons, cuarta edición (1992); Lücking et al, ChemMedChem 2007, 2, 63-77; y Nicolaou. et al. Agew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 4490-4527. Todos los compuestos macrocíclicos de la presente invención se sintetizaron por procedimientos desarrollados por los inventores.

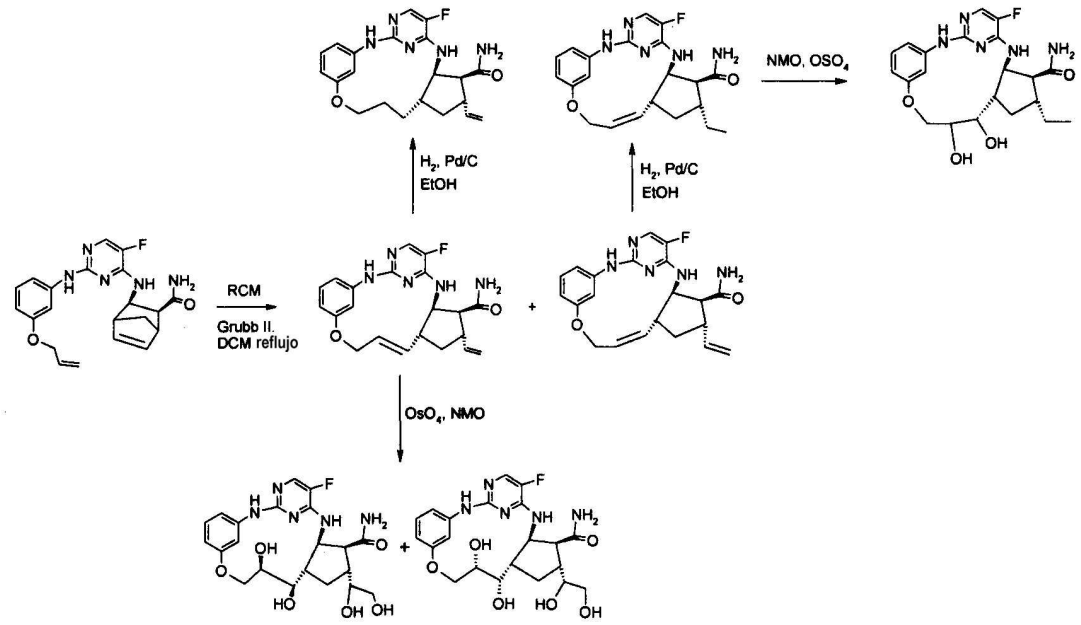
Esquema 1



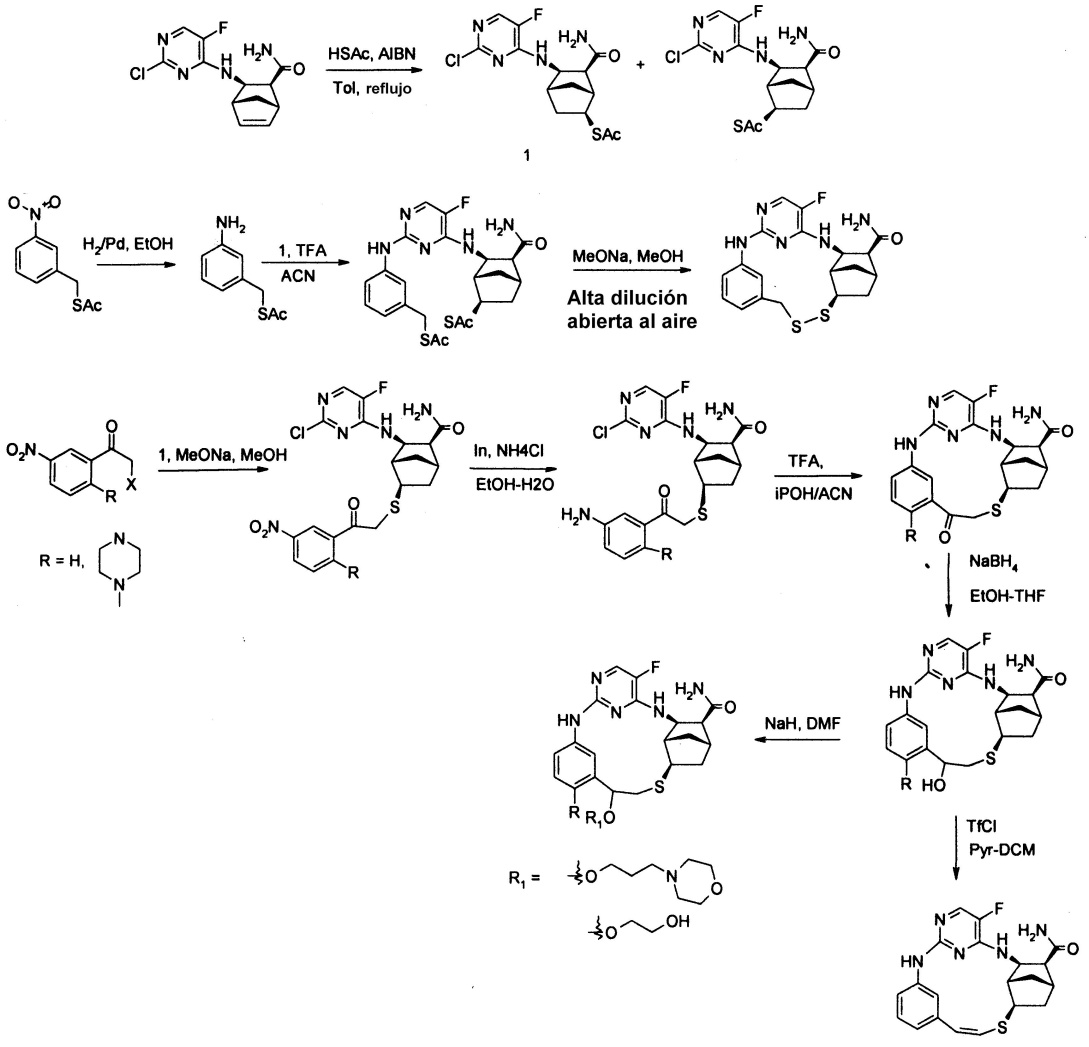
Esquema 2



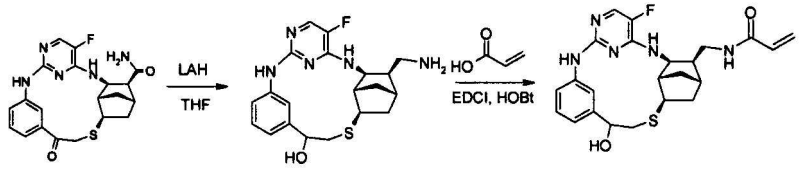
Esquema 3



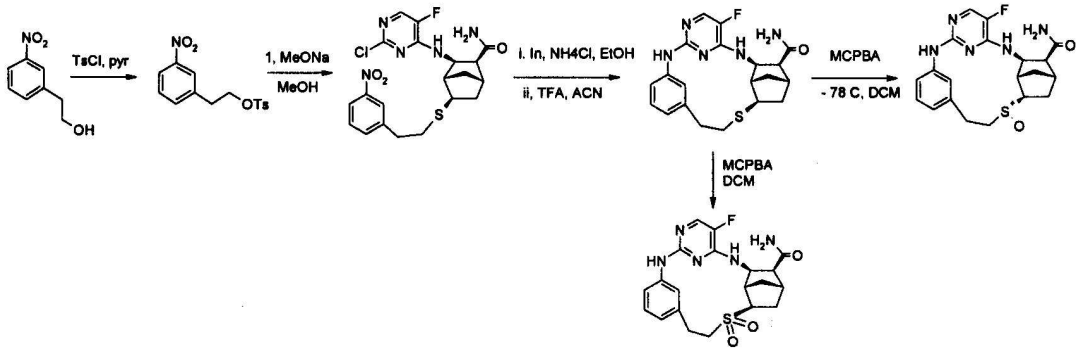
Esquema 4a



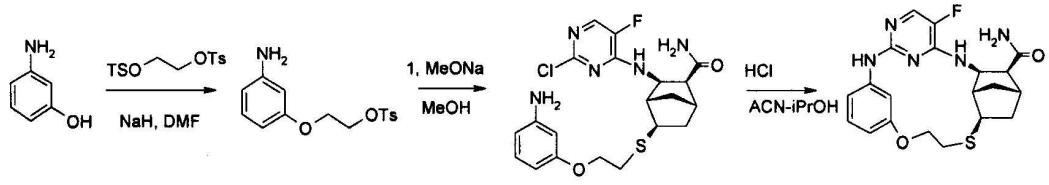
Esquema 4b



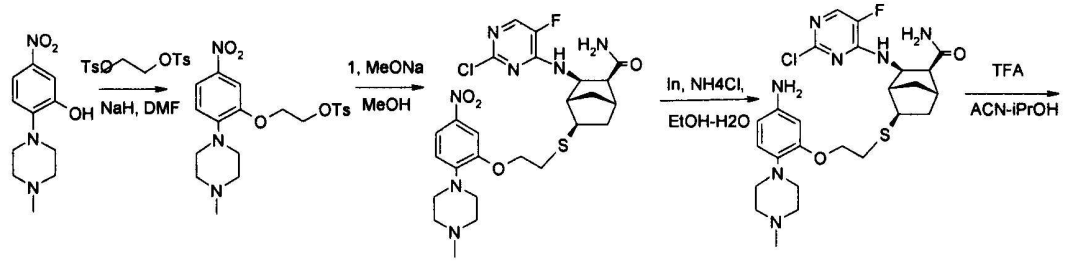
Esquema 5a



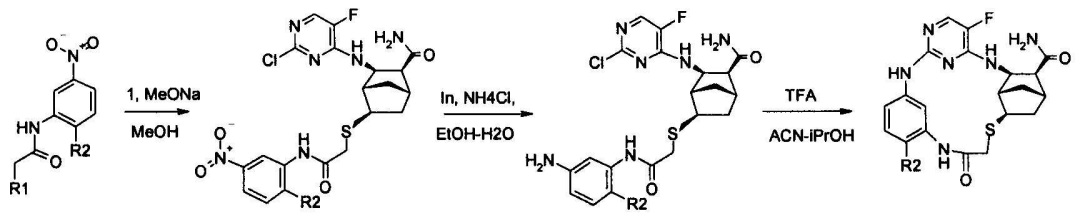
Esquema 5b



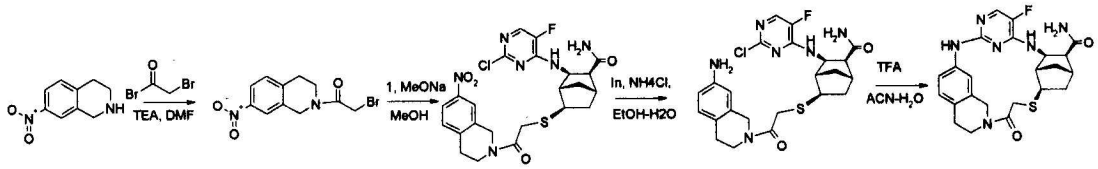
Esquema 5c



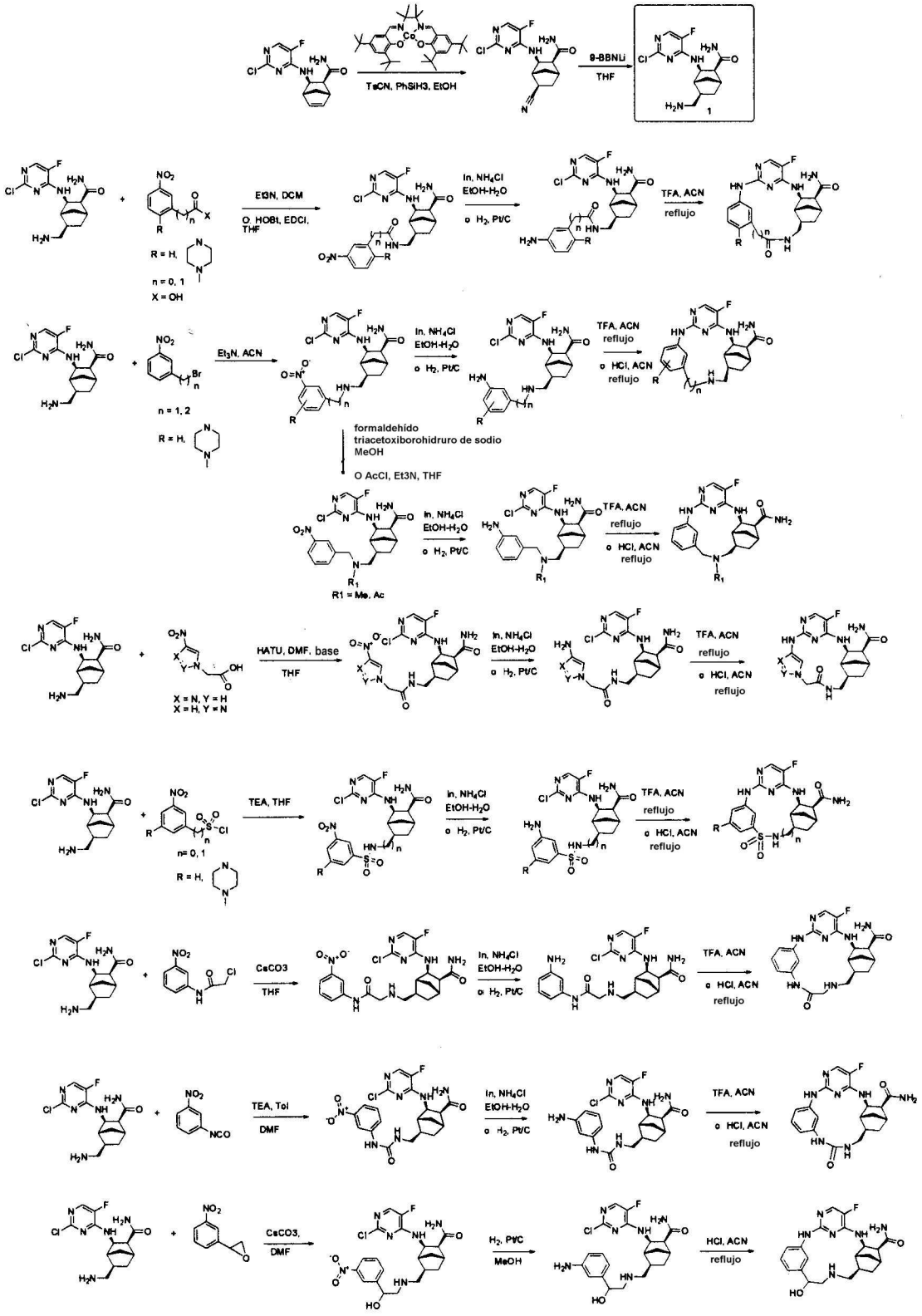
Esquema 5d



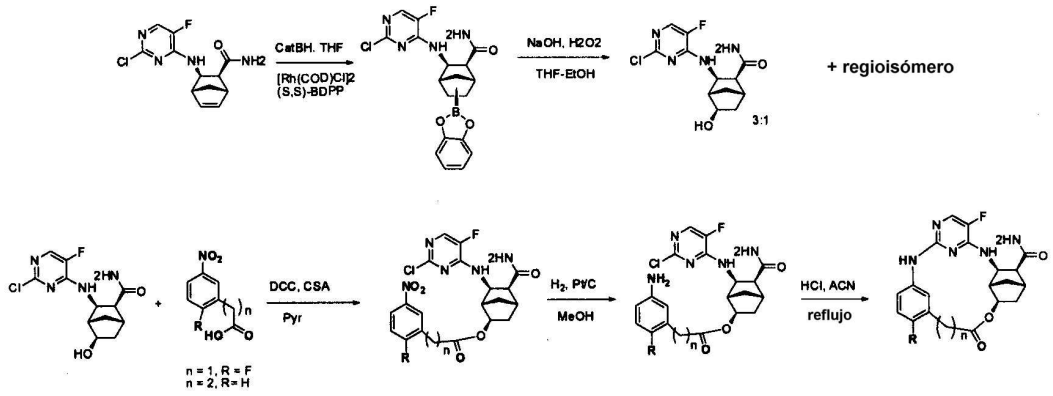
Esquema 5e



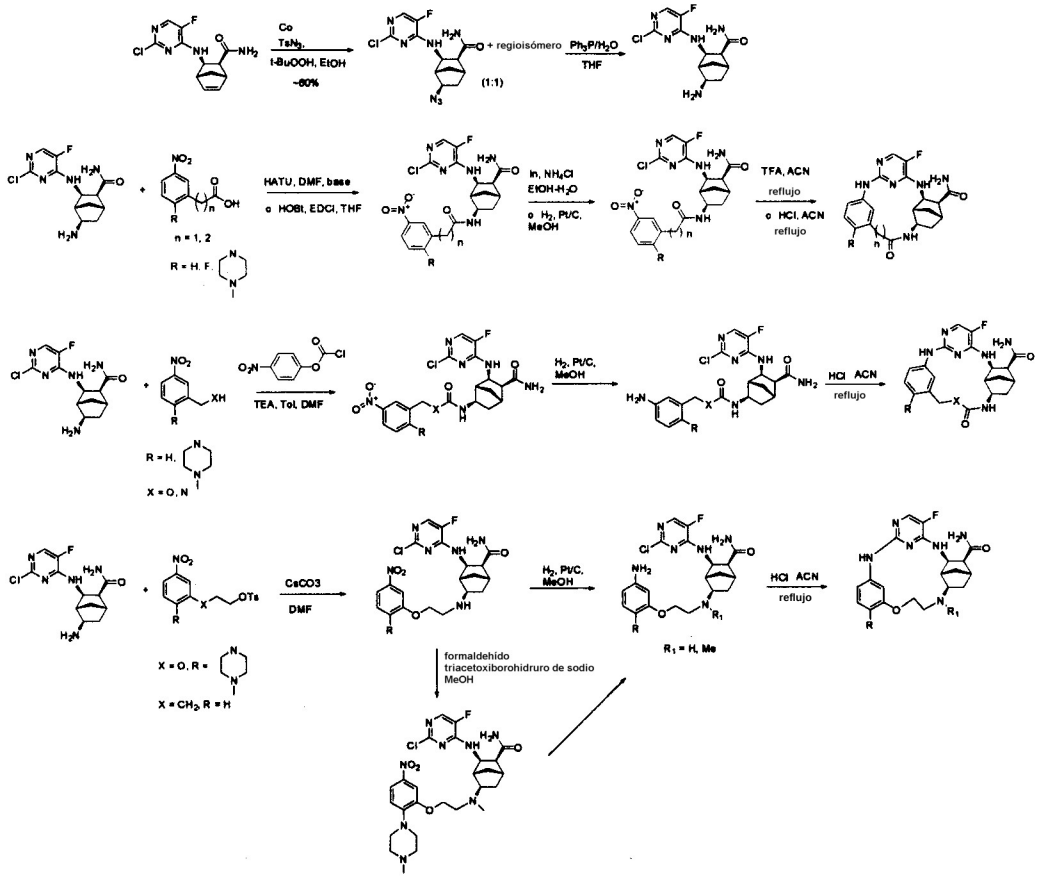
Esquema 6

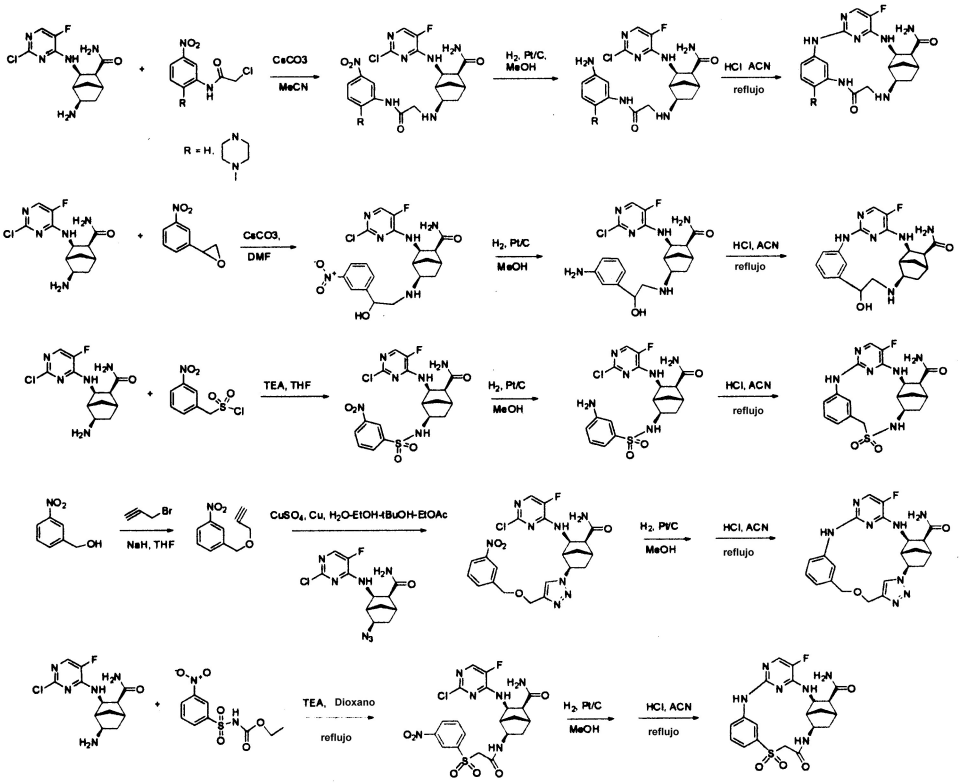

TsCN, PhSiH3, EtOH
9-BBNLi
THF
1
Et3N, DCM
O, HOBt, EDCI, THF
R = H,
n = 0, 1
X = OH
In, NH4Cl
EtOH-H2O
o H2, Pt/C
TFA, ACN
reflujo
Et3N, ACN
n = 1, 2
o HCl, ACN
formaldehído
triacetoxiborohidruro de sodio
MeOH
O AcCl, Et3N, THF
R1 = Me, Ac
HATU, DMF, base
X = N, Y = H
X = H, Y = N
TEA, THF
n= 0, 1
CsCO3
TEA, Tol
DMF
CsCO3,
H2, Pt/C
MeOH
HCl, ACN

Esquema 7


CatBH, THF
[Rh(COD)Cl]2
(S,S)-BDPP
NaOH, H2O2
THF-EtOH
3:1
+ regioisómero
DCC, CSA
Pyr
n = 1, R = F
n = 2, R = H
H2, Pt/C
MeOH
HCl, ACN
reflujo

Esquema 8


Co
TsN3,
t-BuOOH, EtOH
~60%
(1:1)
+ regioisómero
Ph3P/H2O
THF
HATU, DMF, base
o HOBt, EDCI, THF
n = 1, 2
R = H, F
In, NH4Cl
EtOH-H2O
o H2, Pt/C,
MeOH
TFA, ACN
reflujo
o HCl, ACN
reflujo
TEA, Tol, DMF
R = H,
X = O, N
H2, Pt/C,
MeOH
HCl ACN
reflujo
Cs2CO3
DMF
X = O, R =
X = CH2, R = H
formaldehído
triacetoxiborohidruro de sodio
MeOH
R1 = H, Me



Procedimiento A: Reducción nitro a anilina por medio de catalizador de indio

Se disolvió un compuesto nitroarilo en una mezcla de 4:1 de 10 ml de solución etanol/agua. A esta solución se le agregó cloruro de amonio y granos de indio metálico (0). El matraz de reacción se calentó a reflujo. Las reacciones generalmente se completaron en las siguientes 2-3 horas. Al finalizar, la mezcla de reacción se filtró para eliminar fracciones insolubles y se concentró. La mezcla cruda se separó para su ciclización sin purificación adicional.

Procedimiento B: Reducción nitro a anilina por medio del hidrogenador H-Cube

Se disolvió un compuesto nitroarilo en ~20 ml de metanol y después se hizo pasar a través de un hidrogenador H-Cube a 45°C utilizando un cartucho de 5% Pt/C a 1 ml/min. La anilina cruda se concentró y utilizó para ciclización sin purificación adicional.

Procedimiento C: Amidación por medio de HATU

En un matraz de fondo redondo se agregó 1 equivalente de amina, 1,5 equivalentes de ácido carboxílico y 1,5 equivalentes de hexafluorofosfato de N-[(1H-1,2,3-benzotriazol-1-iloxi)(dimetilamino)metilen]-N-metilmetan-aminio (HATU). Esta mezcla seca se disolvió en 3,00 ml de dimetilformamida a la cual después se agregaron 3 equivalentes de N-etil-N-isopropilpropan-2-amina. Se permitió que la mezcla de reacción se agite durante la noche a temperatura ambiente durante 15 horas. El producto deseado se purificó al diluir la mezcla de reacción con ~50 ml de acetato de etilo, extrayendo con una solución 2:1 de salmuera:agua. Se retroextrajo la fracción acuosa una vez, se combinaron las capas orgánicas. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El material crudo se purificó adicionalmente por cromatografía instantánea con un gradiente de hexano/acetato de etilo/metanol para proporcionar el producto deseado.

Procedimiento D: Formación de urea o carbamato por medio de clorurocarbonato de 4-nitrofenilo.

En un frasco seco y limpio con una barra de agitación se disolvió alcohol/amina $_1$ (2 equivalentes) en 3,00 ml de tolueno. A esta mezcla se le agregaron 2 equivalentes de N,N-dietiletanamina seguido por 2 equivalentes de clorurocarbonato de 4-nitrofenilo, por medio de una jeringa. Se permitió que la mezcla de reacción se agite a temperatura ambiente. Después de 30 minutos se agregó a la solución de reacción una solución de la amina $_2$ (1 equivalente) en 1 ml de dimetilformamida. Se permitió que la mezcla de reacción se agite a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción después se concentró y purificó por HPLC RP preparativa para proporcionar el producto deseado.

LC/MS Analítica

La LC/MS analítica se realizó utilizando los siguientes dos métodos:

Método A: Se utilizó una columna Discovery^{MR} C^{18}, 5 µm, 3 x 30 mm a un caudal de 400 µl/min, bucle de muestra de 5 µl, fase móvil: (A) agua con ácido fórmico 0,1%, fase móvil, (B) metanol con ácido fórmico 0,1%; los tiempos de retención se proporcionan en minutos. Detalles del método: (I) corridas en un kit Quaternary Pump G1311A (Agilent) con un detector de arreglo de diodo UV/visible G1315B (Agilent) y un detector Finnigan LCQ Duo MS en el modo ESI+ con detección UV a 254 y 280 nm con un gradiente de 15-95% (B) en un gradiente lineal de 3,2 min (II) retención durante 1,4 min a 95% (B) (III) disminución de 95-15% de (B) en un gradiente lineal de 0,1 min (IV) retención durante 2,3 min a 15% de (B).

Método B: Una columna Waters Symmetric^{MR} C^{18}, 3,5 µm, 4-6 x 75 mm a un caudal de 1 ml/min, bucle de muestra de 10 µl, fase móvil: (A) es agua con TFA 0,05%, la fase móvil, (B) es ACN con 0,05% de TFA; los tiempos de retención se proporcionan en minutos. Detalles del método: (I) corridas en un kit Binary Pump G1312A (Agilent) con un detector de arreglo de diodo UV/visible G1315B (Agilent) y Agilent G1956B (SL) EM detector en el modo ESI+ con detección UV a 254 y 280 nm con un gradiente de 20-85% de (B) en un gradiente lineal de 10 min (II) retención durante 1 min a 85% de (B) (III) disminución de 20-85% de (B) en un gradiente lineal de 0,2 min (IV) retención durante 3,8 min a 20% de (B).

HPLC Preparativa

Se realizó una HPLC preparativa utilizando ya sea una columna Waters Atlantics^{MR} dC_{18} OBD^{MR} 10 µM (30 X 250 mm) o una columna Waters Sunfire^{MR} Prep C_{18} OBD^{MR} 10 µM (30 X 250 mm). Las columnas se utilizaron a una velocidad de flujo de 60 ml/min en un kit Waters Prep LC 4000 System equipado con un bucle de muestra (10 ml) y un detector ISCO UA-6 UV/visible. La fase móvil se extrajo de los dos depósitos de solvente que contienen (A) agua y (B) acetonitrilo grado CLAP. Una corrida preparativa típica utilizó un gradiente lineal (por ejemplo 0-60% de solvente B durante 60 min).

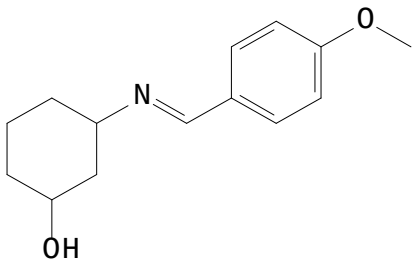
Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar las formas de realización seleccionadas de la invención y no se pretende que constituyan limitantes del alcance de la misma.

Ejemplos preparativos

Síntesis de bloques de construcción

Ejemplo I

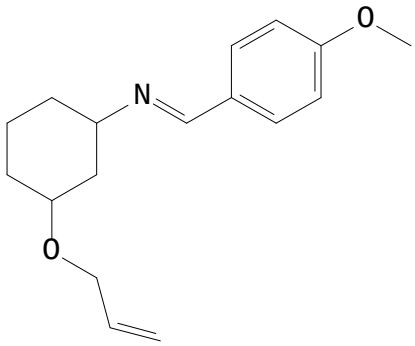
3-{[1-(4-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden]-amino}-ciclohexanol



A una solución agitada vigorosamente de 3-aminociclohexanol (0,9 g, 7,81 mmoles) en hidróxido de sodio acuoso (1 ml, 1 M) a rt se agregó 4-metoxibenzaldehído (1,12 g, 8,20 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min. Los sólidos se recolectaron por filtración al vacío, se lavaron con agua y después se secaron para proporcionar 3-{[1-(4-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden]-amino}-ciclohexanol crudo el cual se utilizó sin manipulación adicional.

Ejemplo II

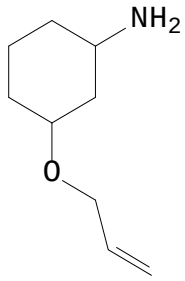
(3-aliloxi-ciclohexil)-[1-(4-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden]-amina



Una suspensión de 3-{[1-(4-metoxi-fenil)-met-(E)-ilidén]-amino}-ciclohexanol (200 mg, 0,86), bromuro de alilo (149 µl, 1,71 mmoles) e hidruro de sodio, dispersión 60% en aceite mineral (60%, 69 mg, 1,71 mmoles) en 4 ml de DMF se agitó a rt. Después de 24 h la reacción se neutralizó con MeOH, se diluyó con EtOAc y se lavó con H_2O y salmuera. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio sólido. Después se concentró para proporcionar la (3-aliloxi-ciclohexil)-[1-(4-metoxi-feil)-met-(E)-ilidén]-amina, la cual se utilizó sin purificación adicional.

Ejemplo III

3-aliloxi-ciclohexilamina

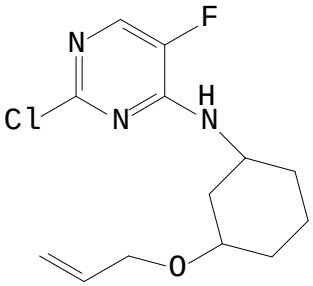


Una solución de (3-aliloxi-ciclohexil)-[1-(4-metoxi-fenil)-met-(E)-ilidén]-amina (100 mg, 0,37 mmoles) en 2 ml de acetona se calentó a reflujo.

Después se agregó ácido clorhídrico acuoso (0,25 ml, 1 M) y se calentó a reflujo durante otros 30 min. La mezcla de reacción se dividió entre ácido clorhídrico acuoso 1 M y acetato de etilo. La fase acuosa se trató con hidróxido de sodio acuoso concentrado hasta que se volvió básica y después se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró bajo presión reducida para proporcionar 3-aliloxi-ciclohexilamina.

Ejemplo IV

(3-aliloxi-ciclohexil)-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-amina

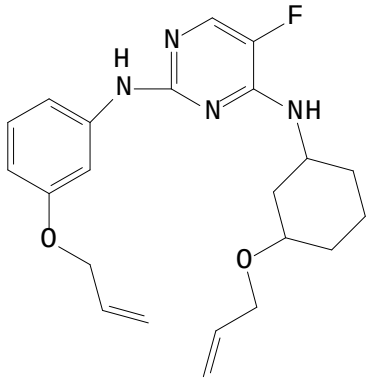


Una mezcla de 3-aliloxi-ciclohexilamina (200 mg, 1,29 mmoles), bicarbonato de sodio (216 mg, 2,58 mmoles) y 2,4-dicloro-5-fluoropirimidina (237 mg, 1,42 mmoles)1) en EtOH-agua (1:1, 4 ml) se agitó a 70°C durante 40 h. La mezcla de reacción se enfrió y se agregó una cantidad pequeña de iPOH. El producto se cristalizó y se filtró hasta un producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea en columna sobre gel de sílice para

proporcionar 260 mg del producto.

Ejemplo V

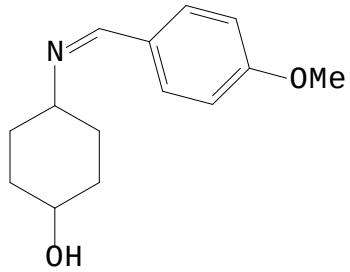
N*4*-(3-aliloxi-ciclohexil)-N*2*-(3-aliloxi-fenil)-5-fluoro-pirimidin-2,4-diamina



Un recipiente a presión se cargó con una solución de (3-aliloxi-ciclohexil)-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-amina (130 mg, 0,45 mmoles), 3-(aliloxi)anilina (102 mg, 0,68 mmoles) y TFA (84 µl, 1,14 mmoles) en 2 ml de isopropanol se selló y se calentó a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió y se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice para proporcionar 79 mg de N*4*-(3-aliloxi-ciclohexil)-N*2*-(3-aliloxi-fenil)-5-fluoro-pirimidin-2,4-diamina. LC/MS [método A, tiempo de retención, 4,71 min; m/z 399,2 (M + 1)].

Ejemplo VI

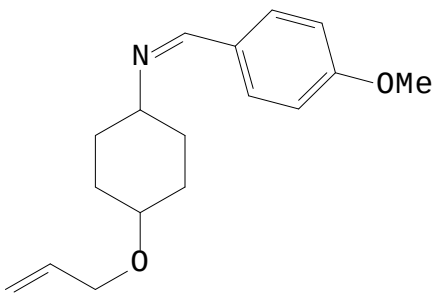
4-(4-metoxibencilidenamino)ciclohexanol



A una solución agitada vigorosamente de 4-aminociclohexanol (1 g, 8,68 mmoles) en hidróxido de sodio acuoso (1 ml, 1 M) a rt se agregó 4-metoxibenzaldehído (1,24 g, 9,12 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min. Los sólidos se recolectaron por filtración al vacío, se lavaron con agua y después se secaron para proporcionar 1,80 g de 4-(4-metoxibencilidenamino)ciclohexanol, el cual se utilizó sin manipulación adicional.

Ejemplo VII

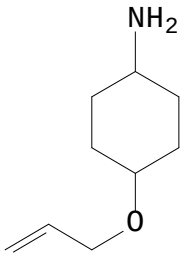
(4-(aliloxi-N-(4-metoxibencilideno)ciclohexanamina



Una suspensión de 4-(4-metoxibencilidenamino)ciclohexanol (1 g, 4,29 mmoles), bromuro de alilo (1,87 ml, 21,4 mmoles) e hidruro de sodio, dispersión 60% en aceite mineral (857 mg, 21,4 mmoles) en 20 ml de DMF se agitó a rt Después de 3 d, la reacción se neutralizó con MeOH, se diluyó con EtOAc y se lavó con H_2O y con salmuera. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio sólido. Después se concentró para proporcionar (4-(aliloxi)-N-(4-metoxibencilideno)ciclohexanamina, la cual se utilizó sin purificación adicional.

Ejemplo VIII

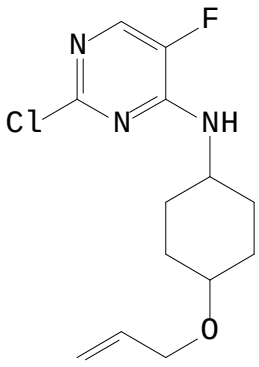
4-(aliloxi)ciclohexanamina



Una solución de 4-(aliloxi)-N-(4-metoxibencilideno)ciclohexanamina (1,20 g, 4,39 mmoles) en 20 ml de acetona se calentó a reflujo. Después se agregó ácido clorhídrico acuoso (2,5 ml, 1 M) y se calentó a reflujo, continuando durante otros 30 min. La mezcla de reacción se dividió entre ácido clorhídrico acuoso 1 M y acetato de etilo. La fase acuosa se trató con hidróxido de sodio concentrado acuoso hasta que se volvió básica y después se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró bajo presión reducida para proporcionar 630 mg de 4-(aliloxi)ciclohexanamina.

Ejemplo IX

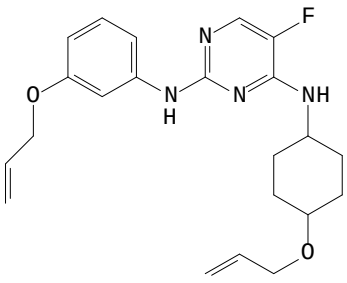
N-(4-(aliloxi)ciclohexil)-2-cloro-5-fluoropirimidin-4-amina



Una mezcla de 4-(aliloxi)ciclohexanamina (500 mg, 2,58 mmoles), bicarbonato de sodio (433 mg, 5,15 mmoles) y 2,4-dicloro-5-fluoropirimidina (473 mg, 2,83 mmoles) en 13 ml de DMF se agitó a 70°C durante 40 h. La mezcla de reacción se enfrió y se agregó una cantidad pequeña de iPOH. El producto se cristalizó y se filtró.

Ejemplo X

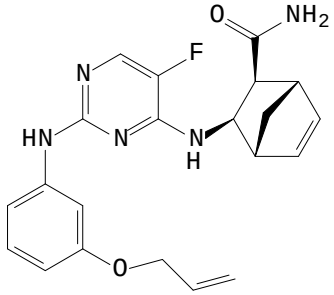
N^4-(4-aliloxi)ciclohexil)-N^2-(3-(alilozi)fenil)-5-fluoropirimidin-2,4-diamina



Un recipiente a presión se cargó con una solución de N-(4-aliloxi)ciclohexil)-2-cloro-5-fluoropirimidin-4-amina (300 mg, 1,05 mmoles), 3-(aliloxi)anilina (235 mg, 1,57 mmoles) y TFA (194 µl, 2,62 mmoles) en 5 ml de isopropanol, se selló y se calentó a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió y se sometió a cromatografía instantánea en gel de sílice para proporcionar N^4-(4-(aliloxi)ciclohexil)-N^2-(3-(aliloxi)fenil)-5-fluoropirimidin-2,4-diamina (sólido marrón, 180 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención, 4,84 min; m/z 399,4 (M + 1)].

Ejemplo XI

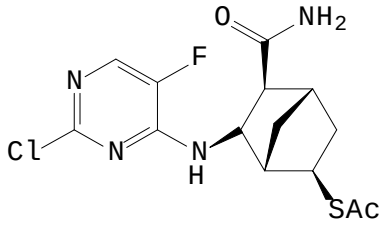
(1S,2S,3R,4R)-3-(2-(3-aliloxi)fenilamino)-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida



Un recipiente de presión se cargó con una barra de agitación, (1S,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (500 mg, 1,77 mmoles), 3-(viniloxi)anilina (290 mg, 1,95 mmoles), ácido trifluoroacético (327 µl, 4,42 mmoles) y 9 ml de isopropanol, y se selló y se calentó a 100°C durante la noche. Los sólidos se recolectaron por filtración al vacío para proporcionar (1S,2S,3R,4R)-3-(2-(3-(aliloxi)fenilamino)-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (sólido gris, 0,50 g). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,49 min; m/z 396,1 (M + 1)].

Ejemplo XII

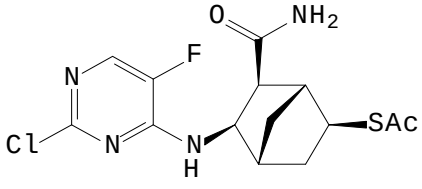
Etantioato de S-(1S,2R,4S,5S,6S)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-ilo



Una mezcla de (1S,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (10 g, 35,37 mmoles), ácido tioacético (2,77 ml, 38,9 mmoles), y azobisisobutironitrilo (581 mg, 3,54 mmoles) en 180 ml de tolueno se calentó a reflujo durante la noche bajo nitrógeno. La mezcla de reacción después se concentró bajo presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice utilizando hexanos/acetato de etilo para separar los dos productos regioisoméricos. Se obtienen 2,5 g de S-{(1S,2R,4S,5S,6S)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]etanotionato de hept-2-ilo}. LC/MS [método B, tiempo de retención, 5,31 min; m/z 359,0 (M + 1)].

Ejemplo XIII

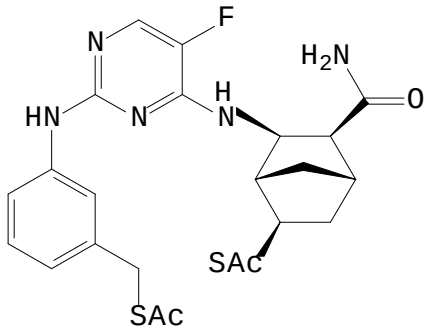
S-(1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil]tio}biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida



La cromatografía anterior también proporcionó 3,9 g de S-(1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil]tio}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida. LC/MS [método B, tiempo de retención, 5,15 min; m/z 359,0 (M + 1)].

Ejemplo XIV

Ester S-{3-[4-((1S,2S,3S,4S,6R)-6-acetilsulfanil-3-carbamoil-biciclo[2.2.1]hept-2-ilamino)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]bencílico] del ácido tioacético

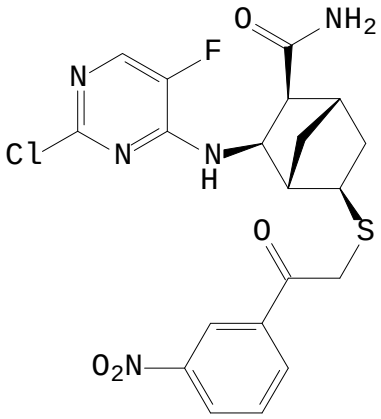


A una solución del éster S-(3-nitro-bencílico) del ácido triacético (1 g, 4,7 mmoles) en 10 ml de EtOH se agregó Pd/C (10%, cantidad catalítica). La mezcla se agitó bajo hidrógeno (30 Psi) durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró para proporcionar el éster S-(3-amino-bencílico) del ácido triacético en su forma cruda.

El éster S-(3-amino-bencílico) del ácido tioacético crudo se utilizó para sintetizar el éster S-{3-[4-((1S,2S,3S,4S,6R)-6-acetilsulfanil-3-carbamoil-biciclo[2.2.1]hept-2-ilamino)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]bencílico} del ácido tioacético utilizando el método descrito del ejemplo 11.

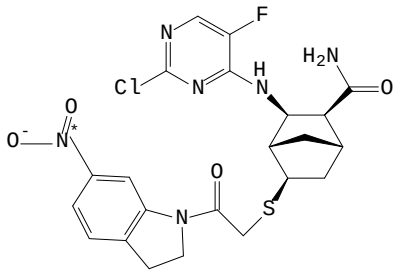
Ejemplo XV

(1S,2S,3S,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-(3-nitrofenil)-2-oxoetiltio)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



A una suspensión de etantioato de S-{(1S,2R,4S,5S,6S)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]bibiclo[2.2.1]hept-2-ilo} (300 mg, 0,84 mmoles) en 5 ml de metanol anhidro se agregó una solución de metóxido de sodio (0,3 ml, ~ 30% en metanol) y la mezcla resultante se agitó a rt durante 30 min. La mezcla de reacción se trató a rt con 2-bromo-3'-nitroacetofenona (306 mg, 1,25 mmoles) y se agitó a rt durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con metanol, se neutralizó por la adición de una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida (forma de hidrógeno), se filtró y después se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice para proporcionar 230 mg de (1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil]tio}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida. LC/MS [método A, tiempo de retención 5,69 min; m/z 480,0 (M + 1)].

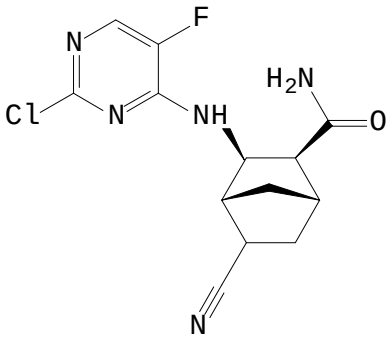
Ejemplo XVII



El compuesto se preparó con un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 25 abajo. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,99 min; m/z 521,1 (M + 1)].

Ejemplo XVIII

(1S,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-cianobiciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

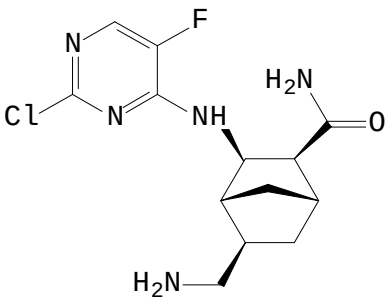


Se disolvió un catalizador de complejo de ligando cobalto (43,00 mg; 0,07 mmoles) (preparado como se describe en J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 11693-11712) en 2 ml de etanol a temperatura ambiente bajo nitrógeno en un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación. Después de 2 min, se agregó (1S,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (2,00 g; 7,07 mmoles) a la solución roja con agitación seguido por cianuro de 4-metilbencensulfonilo (41 mg; 8,49 mmoles). Después se agregó por gotas fenilsilano (0,87 ml; 7,07 mmoles; 1,00 equivalentes). La mezcla homogénea roja resultante se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos.

La mezcla de reacción se concentró, se captó sobre sílice y se cargó sobre una columna de sílice para cromatografía instantánea utilizando un gradiente de 0-80% de acetato de etilo en hexanos para proporcionar el producto deseado en 490 mg, (22% de rendimiento). LC/MS [método B, tiempo de retención 4,1 min; m/z 310,0 (M + 1)].

Ejemplo XIX

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

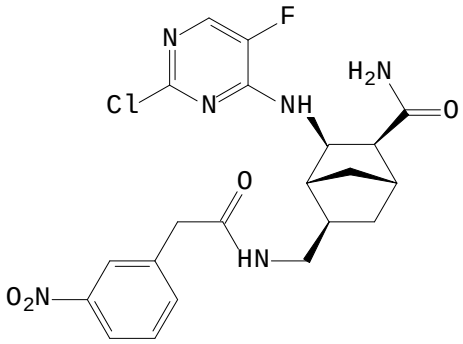


A una solución en agitación de (1S,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-cianobiciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (0,98 g; 3,16 mmoles) en 15 ml de tetrahidrofurano a 0°C se agregó 9-borabiciclo[3,3,1]nonan-9-uro de

litio (15,82 ml; 1,00 M en THF, 15,82 mmoles). A los diez minutos se permitió que el matraz de reacción se calentara hasta la temperatura ambiente y después se calentó a 66°C durante 1 hora. La reacción se suspendió por adición lenta de metanol. La mezcla se concentró al vacío en un volumen de ~ 10 ml, y después se agregó polvo de sílice (malla 60) y la mezcla se secó durante la noche. El polvo después se cargó en seco sobre una columna de sílice y se sometió a cromatografía instantánea con un gradiente de 1:1 de cloroformo:metanol con trietilamina 1% para proporcionar el producto deseado (0,297 mg, 30,1% de rendimiento). LC/MS [método B, tiempo de retención 0,59 min; m/z 314,3 (M + 1)].

Ejemplo XX

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(3-nitrofenil)acetamido)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



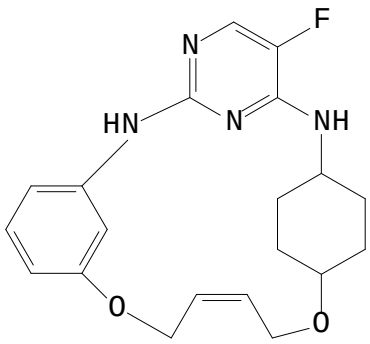
A una solución de ácido 3-[(terbutoxicarbonil)amino]benzoico (0,16 ml; 0,70 mmoles) en 5 ml de DCM se agregó 1-cloro-N,N-2-trimetilprop-1-en-1-amina (592,81 mg; 0,59 mmoles). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar cloruro de ácido crudo. Esto se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

A una solución de (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (50,00 mg; 0,16 mmoles) en 2 ml de DCM se agregó trietilamina (0,03 ml; 0,19 mmoles) seguido por el cloruro de (3-nitrofenil)acetilo crudo (0,70 ml; 0,25 M; 0,18 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía instantánea utilizando acetato de etilo 0-100% en hexano, seguido por una descarga de metanol 50%-acetato de etilo para proporcionar 18,75 mg (24,7%) del producto puro. LC/MS [método B, tiempo de retención 5,2 min; m/z 477,3 (M + 1)].

Síntesis de Compuestos Macrocíclicos

Ejemplo 1

(16Z)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo-[18.2.2.1~3,7~.1~9,13]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno

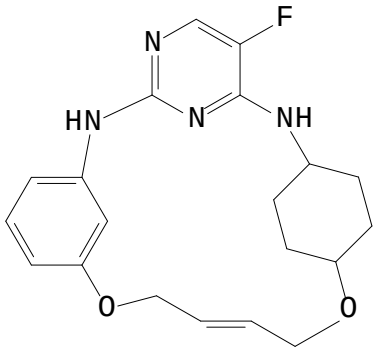


A una solución de N^4-(4-(aliloxi)ciclohexil)-N^2-(3-(aliloxi)fenil)-5-fluoropirimidin-2,4-diamina (100 mg, 0.25 mmoles) en diclorometano anhidro se agregó una solución de catalizador de Grubbs, 2ª generación (32 mg, 0.04 mmoles) en

diclorometano anhidro. La mezcla de reacción (volumen total, 125 ml) se calentó a reflujo durante 3 d y después se trató con catalizador de Hoveyda-Grubbs, 2ª generación (23,6 mg, 0.0376 mmoles). La mezcla de reacción después se calentó a reflujo durante otras 4 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentra. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase reversa preparativa para separar los dos productos principales de los cuales el compuesto que eluyó más rápido era (16Z)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno (sólido blanco, 2,5 mg). LC/MS [método B, tiempo de reacción 3,06 min; m/z 371,2 (M + 1)].

Ejemplo 2

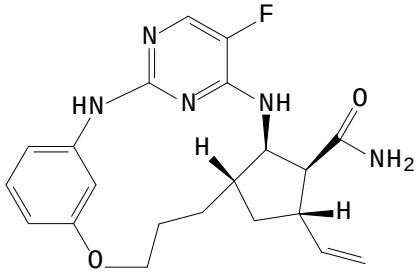
(16E)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno



Se preparó con el mismo procedimiento utilizado en el ejemplo 1 anterior. La HPLC de fase reversa preparativa separó los dos productos principales para proporcionar (16E)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno como el compuesto que eluyó más lentamente (sólido blanco, 3 mg). LC/MS [método B, tiempo de retención 3,59 min; m/z 371,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 3

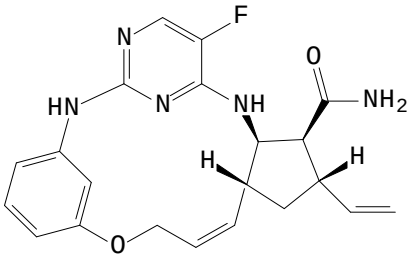
(15E,16aR,18S,19aR)-3-fluoro-18-vinil-14,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



A una solución agitada de (1S,2S,3R,4R)-3-(2-(3-aliloxi)fenilamino)-5-fluoropirimidin)biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (100 mg, 0,25 mmoles) en diclorometano anhidro se agregó una solución de catalizador de Grubbs, 2ª generación (32,2 mg, 0.04 mmoles) en diclorometano anhidro. La mezcla de reacción (13 ml de volumen total) después se calentó a reflujo durante 3 h bajo nitrógeno, se enfrió y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase reversa preparativa (C-18) para separar los dos productos principales de los cuales el compuesto que eluyó más rápido era (15E,16aR,18S,19S,19aR)-3-fluoro-18-vinil-14,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida (sólido blanco, 15 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4.04 min; m/z 396,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 4

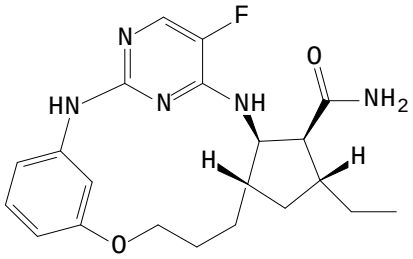
(15Z,16aR,18S,19S,19aR)-3-fluoro-18-vinil-14,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



Se preparó con el mismo procedimiento utilizado en el ejemplo 3 anterior. Es la sustancia que eluyó más lentamente de los dos compuestos proporcionados por HPLC de fase reversa preparativa, el cual era la (15Z,16aR,18S,19S,19aR)-3-fluoro-18-vinil-1,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida que se obtiene como un sólido gris (1,5 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,19 min m/z 396,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 5

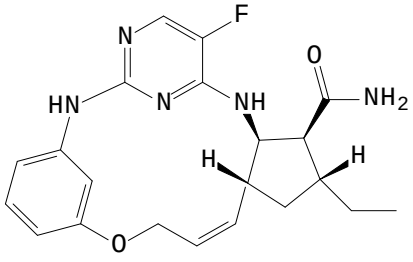
(16aS,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



Una mezcla de los compuestos de producto de los ejemplos 3 y 4 (10 mg) se disolvió en 5 ml de metanol y después se hidrogenó utilizando un reactor de hidrogenación de flujo continuo H-Cube equipado con un cartucho de catalizador 10% Pd/C. La mezcla de reacción después se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase reversa preparativa (C-18) para separar los dos productos principales, de los cuales el producto que eluyó más rápido era (16aS,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida (sólido blanco, 1 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,54 min; m/z 400,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 6

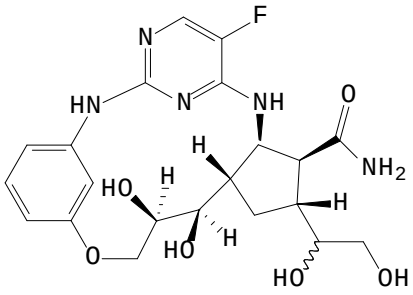
(15Z,16aR,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-14,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n]-[1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



Se preparó con el mismo procedimiento utilizado para obtener el compuesto en el ejemplo 5 precedente. Se trató de una elusión más corta de los dos compuestos que proporcionó la HPLC de fase reversa preparativa, se obtuvo la (15Z,16aR,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-14,16a,17,18,19,19a-hexahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-18,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida como 1,7 mg de un sólido blanco. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,63 min; m/z 398,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 7

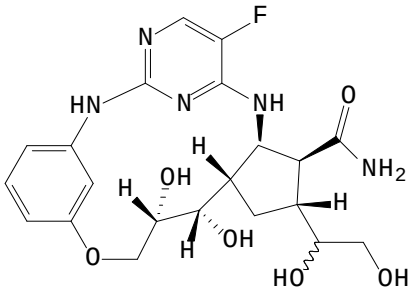
(15R,16R,16aS,18R,19S,19aR)-18-(1,2-dihidroxietil)-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]-oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



A una suspensión agitada del compuesto de producto final del ejemplo 3 (10 mg, 0,03 mmoles, 1 equivalente) y 4-metilmorfolina-N-óxido (8,9 mg, 0,08 mmoles) en acetona/agua (4:1, 1 ml) a rt se agregó tetróxido de osmio (0,19 mg, 0,007 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a rt durante 2 h y después se concentró bajo presión reducida. El residuo se trató con 1 ml de sulfito de sodio acuoso saturado y después se sometió a HPLC preparativa para separar la mezcla de productos. Se obtuvo (15R,16R,16aS,18R,19S,19aR)-18-(1,2-dihidroxietil)-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H-7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida (sólido blanco, 1 mg) como el eluyente más rápido. No se determinó la estereoquímica de los grupos hidroxilo. LC/MS [método B, tiempo de retención 1,01 min; m/z 464,5 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 8

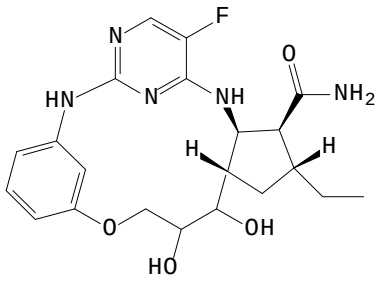
(15S,16S,16aS,18R,19S,19aR)-18-(1,2-dihidroxietil)-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]-oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



Se preparó con el mismo procedimiento utilizado para obtener el compuesto de producto final del ejemplo 7. Después de HPLC preparativa, se obtuvo (15S,16S,16aS,18R,19S,19aR)-18-(1,2-dihidroxietil)-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]-oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida (sólido blancuzco, 1 mg) como el eluyente más lento. No se determinó la estereoquímica de los grupos hidroxilo. LC/MS [método B, tiempo de retención 1,20 min; m/z 464,5 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 9

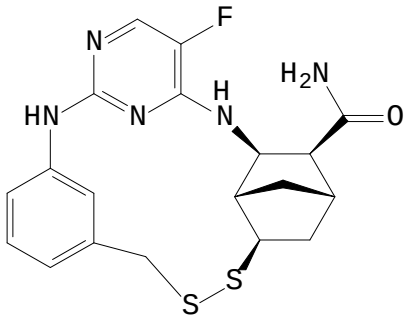
(15RS,16SR,16aS,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H-6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]oxatriazaciclooctadecin-19-carboxamida



A una suspensión agitada del compuesto de producto final del ejemplo 6 (5 mg, 0,01 mmoles) y 4-metilmorfolino-N-

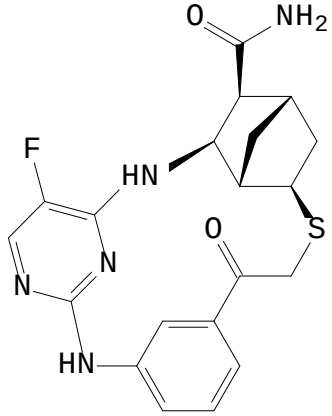
óxido (4,42 mg, 0,04 mmoles) en acetona/agua (4:1, 0,5 ml) a rt se agregó tetróxido de osmio (0,10 mg, 0,0003 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a rt durante la noche, se neutralizó por la adición de 1 ml de una solución saturada acuosa de sulfito de sodio, se filtró y se concentró. El residuo resultante que pasó por la HPLC de fase reversa preparativa proporcionó (15RS,16SR,16aS,18R,19S,19aR)-18-etil-3-fluoro-15,16-dihidroxi-14,15,16,16a,17,18,19,19a-octahidro-1H,7H,6,2-(azeno)-8,12-(meteno)ciclopenta[n][1,7,9,13]-oxatriazaciclooctadecin-1-carboxamida como un sólido blancuzco, 1 mg. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,16 min; m/z 432,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 10



A una solución de éster S-{3-[4-((1S,2S,3S,4S,6R)-6-acetilsulfanil-3-carbamoil-biciclo[2.2.1]hept-2-ilamino)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]bencílico} del ácido tioacético (30 mg, 0,06 mmoles) en 300 ml de MeOH se agregó MeONa/MeOH (30%, 0,1 ml). La mezcla se agitó a rt con solución al aire (sin tapa) durante la noche. La mezcla se concentró y purificó por cromatografía instantánea para proporcionar 24 mg del producto final. LC/MS [método A, tiempo de retención 5,01 min; m/z 418,1 (M + 1)].

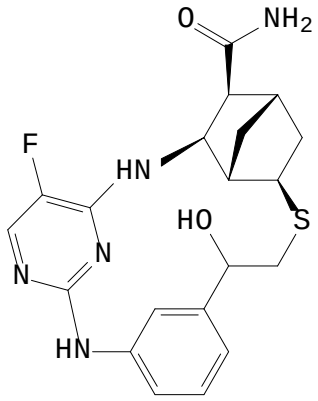
Ejemplo comparativo 11



A un recipiente de presión cargado con una solución del ejemplo XV preparativo (50 mg, 0,10 mmoles) en 1,2 ml de etanol se agregó cloruro de amonio (55,7 mg, 1,04 mmoles), 0,6 ml de agua e indio (49,1 mg, 0,43 mmoles). El recipiente de presión se selló y se calentó a 100°C durante 1 h. La mezcla de reacción después se diluyó con acetato de etilo y las fases se separaron en una columna separadora de fases Alltech. La fase orgánica se concentró bajo presión reducida para proporcionar (1S,2S,3S,4S,5R)-5-(2-(3-aminofenil)-2-oxoetiltio)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida cruda, la cual se utilizó sin manipulación adicional.

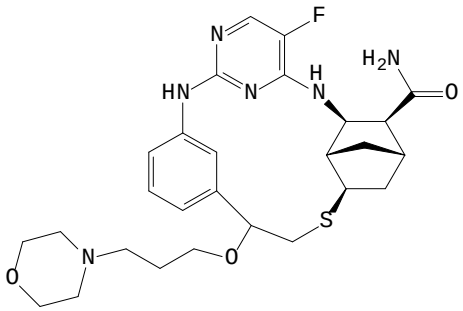
En un matraz de 3 bocas se calentó a reflujo una solución de TFA (10,3 µl, 0,14 mmoles) y 20 ml de acetonitrilo anhidro. Por medio de un embudo de adición, a la solución de TFA se le agregó por gotas, durante 1 h, una solución de (1S,2S,3S,4S,5R)-5-(2-(3-aminofenil)-2-oxoetiltio)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida cruda (25 mg, 0,06 mmoles) en acetonitrilo/isopropanol (1:1, 10 ml). La mezcla de reacción después se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió, se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice para proporcionar 11 mg del compuesto del producto final. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,94 min; m/z 414,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 12



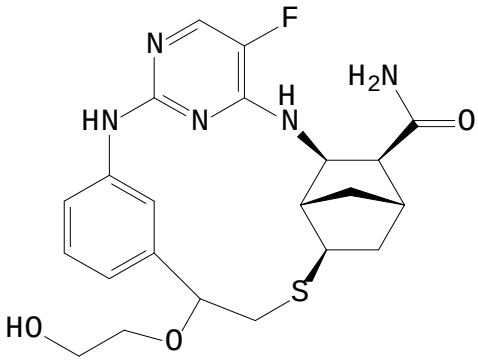
Una mezcla del compuesto de producto final del ejemplo 11 precedente (60 mg, 0,15 mmoles) y borohidruro de sodio (22 mg, 0,58 mmoles) en THF/etanol (1:1, 2 ml) se agitó a rt durante 4 h. La mezcla de reacción se sometió a HPLC preparativa para proporcionar el producto (sólido blanco, 3 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 3,54 min; m/z 416,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 13



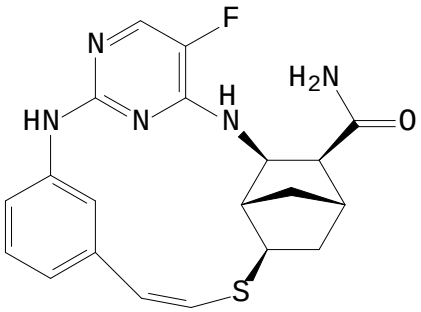
A una solución del compuesto del producto final del ejemplo 12 precedente (50 mg, 0,12 mmoles) en 0,5 ml de DMSO)) se agregó NaH (60%, 26 mg, 0,66 mmoles)). La mezcla se agitó durante 30 min bajo nitrógeno a rt, se agregó a la mezcla clorhidrato de 4-(3-cloropropil)morfolina (48 mg, 0,24 mmoles). Se permitió que la reacción avanzara durante la noche a rt La mezcla se neutralizó con MeOH y luego se neutralizó con AcOH. Después se aplicó a una HPLC preparativa para proporcionar 7 mg del aducto puro. LC/MS [método B, tiempo de retención 2,50 min; m/z 543,7 (M + 1)].

Ejemplo 14



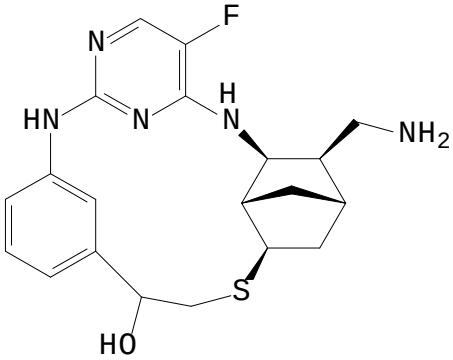
El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento en el ejemplo 13 precedente. Excepto que para esta reacción el tiempo de reacción es de 3 horas. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,97 min; m/z 460,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 15



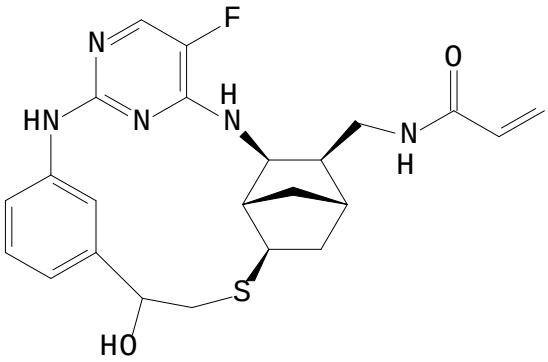
A una solución del compuesto del producto final precedente del ejemplo 11 (80 mg, 0,19 mmoles) en piridina-DCM (1:1, 2 ml) a 0°C se agregó TfCl (82 µl, 0,77 mmoles) por gotas. Se permitió que la mezcla se calentara a rt y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró y se neutralizó con AcOH. Después se aplicó a una C-18 de HPLC preparativa para obtener 1 mg del aducto puro. LC/MS [método B, tiempo de retención 1,24 min; m/z 398-1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 16



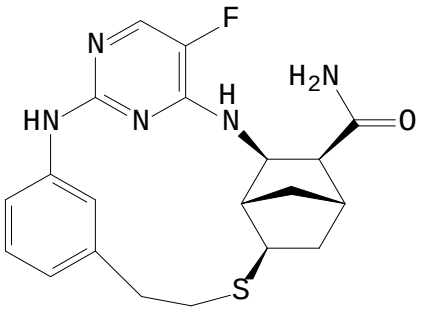
El compuesto del producto final del ejemplo precedente 11 (400 mg, 0,97 mmoles) se suspendió en THF (5 ml) a 0°C. se agregó $LiAlH_4$ líquido (1 M en THF, 3,87 ml) a la mezcla de agitación, por gotas, bajo nitrógeno. Se permitió que la mezcla se calentara a rt Después de 5 h la reacción se neutralizó con MeOH. Aproximadamente 20% del volumen de la mezcla se neutralizó luego con AcOH y después se aplicó a una C-18 de HPLC preparativa para proporcionar 40 mg del aducto puro. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,32 min; m/z 402,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 17



A una solución del compuesto del producto final del ejemplo 16 (30 mg, 0,07 mmoles) y ácido acrílico (7 mg, 0,1 mmoles) en 1 ml de DMF se agregó clorhidrato de N-[3-(dimetilamino)propil]-N'-etilcarbodiimida (18,6 mg, 0,1 mmoles), 1H-1,2,3-benzotriazol-1-ol (13 mg, 0,1 mmoles) y Et_3N (28 µl, 0,17 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla después se aplicó a una C-18 de HPLC preparativa para proporcionar 3 mg del aducto puro. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,71 min; m/z 456,4 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 18



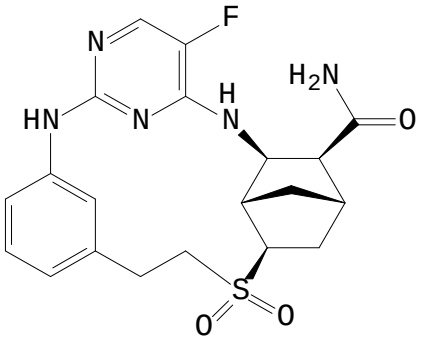
Se agitaron 2-(3-nitrofenil)etanol (1 g, 6,0 mmoles) y cloruro de tosilo (1,37 g, 7,2 mmoles) en piridina-DCM (1:1, 10 ml) a rt durante la noche. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con HCl 10%, una solución saturada de $NaHCO_3$, H_2O, salmuera y se secó sobre Na_2SO_4. La capa orgánica se concentró y se secó para proporcionar el 4-metilbenzensulfonato de 2-(3-nitrofenil)etilo. Se utilizó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

A una suspensión de etanotionato de S-(1S,2R,4S,5S,6S)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-ilo} (300 mg, 0,84 mmoles) en 5 ml de metanol anhidro se agregó una solución de metóxido de sodio (0,3 ml, ~ 30% en metanol) y la mezcla resultante se agitó a rt durante 30 min. La mezcla de reacción después se trató con 4-metilbenzensulfonato de 2-(3-nitrofenil)etilo crudo (537 mg, 1,7 mmoles) y se agitó a rt durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con metanol, se neutralizó por la adición de una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida (forma de hidrógeno), se filtró y después se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice para proporcionar (1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[2-(3-nitrofen)etil]tio}biciclo[2.2.1]heptano (245 mg).

A una suspensión de (1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[2-(3-nitrofenil)etil]tio}biciclo[2.2.1]heptano (243 mg, 0,5 mmoles) en 7 ml de EtOH se agregó NH_4Cl (268 mg, 5,0 mmoles) y agua (3,5 ml). La mezcla se calentó a 100°C hasta completar la reacción (1 h). La mezcla se filtró, se concentró y se secó. El producto crudo resultante, la 1S,2S,3S,4S,5R)-5-{[2-(3-aminofenil)etil]tio}-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

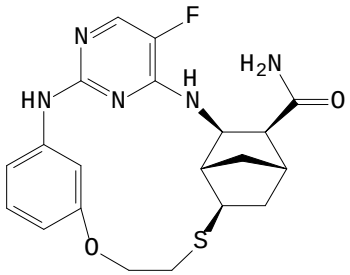
A un matraz de fondo redondo de 500 ml se le cargó TFA (29 µl) y 100 ml de ACN seco. Después se calentó a reflujo. La solución de (1S,2S,3S,4S,5R)-5-{[2-(3-aminofenil)etil]tio}-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg; 0,16 mmoles) en 1/1 de ACN/iPrOH (15 ml) se agregó por gotas con una bomba de jeringa durante 3 h. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. Se enfrió y se concentró. El residuo resultante se aplicó a una HPLC preparativa de fase reversa para obtener el compuesto puro del ejemplo 18 (10 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,58 min; m/z 400,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 19



A una solución del compuesto de producto final del ejemplo 18 precedente (50 mg, 0,12 mmoles) en DCM a rt bajo nitrógeno se agregó MCPBA (70%, 37 mg, 0,14 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante 4 horas. La reacción se neutralizó con una solución saturada de $NaHSO_3$ y la mezcla se concentró. El residuo resultante se aplicó a HPLC preparativa de fase reversa para proporcionar 3 mg del aducto deseado. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,28 min; m/z 432,1 (M + 1)].

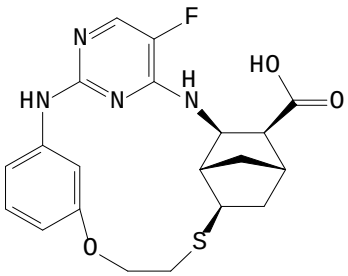
Ejemplo comparativo 20



A una solución de N-(3-hidroxifenil)acetamida (1 g, 6,6 mmoles) en 10 ml de DMF se agregó NaH (60%, 0,24 g, 9,9 mmoles) bajo nitrógeno. Después de 30 min, se agregó bis(4-metilbencensulfonato) de etan-1,2-diil sólido (7,4 g, 19,9 mmoles) a la mezcla. Se permitió que la reacción avanzara durante la noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (5 ml) y se vertió en 150 ml de agua. El producto crudo, 4-metilbencensulfonato de 2-[3-(acetilamino)fenoxi]etilo se obtuvo por filtración al vacío y se secó. El aducto se llevó a la siguiente etapa directamente sin manipulación adicional.

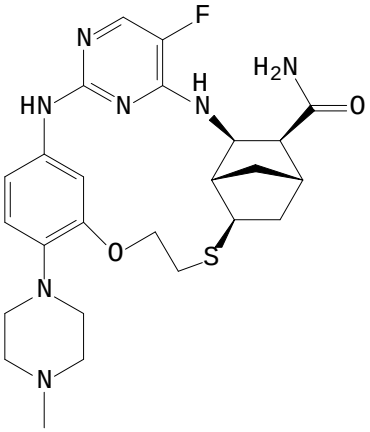
Se preparó (1S,2S,3S,4S,5R)-5-({2-[3-(acetilamino)fenoxi]etil}tio)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida como se describió para la síntesis del compuesto de producto final en el ejemplo 18 precedente. A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le cargó TFA (22 µl) y 50 ml de ACN seco. Después se calentó a reflujo. La solución de ((1S,2S,3S,4S,5R)-5-({2-[3-(acetilamino)fenoxi]etil}tio)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (50 mg; 0,10 mmoles) en 1/1 de ACN/iPrOH (10 ml) se agregó por gotas con una bomba de jeringa durante 3 h. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. Se agregó HCl (4 M en dioxano, 1 ml) a la mezcla en reflujo y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió y se concentró. El residuo resultante se aplicó a HPLC preparativa de fase reversa para obtener el compuesto puro del ejemplo 20 (9 mg) y también del ejemplo 21 (10 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,56 min; m/z 416,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 21



Este compuesto se preparó como se describió antes en el ejemplo 20. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,87 min; m/z 417,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 22

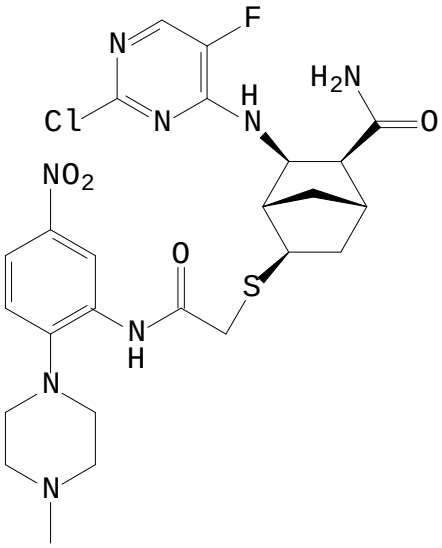


Se preparó (1S,2S,3S,4S,R5)-5-({2-[5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)fenoxi]etil}tio)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida como se describió en la síntesis del ejemplo 20 anterior.

La etapa de macrocilización fue similar a la síntesis del compuesto del producto final en el ejemplo 20 anterior para proporcionar 6 mg de este compuesto nuevo. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,50 min; m/z 514,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 23

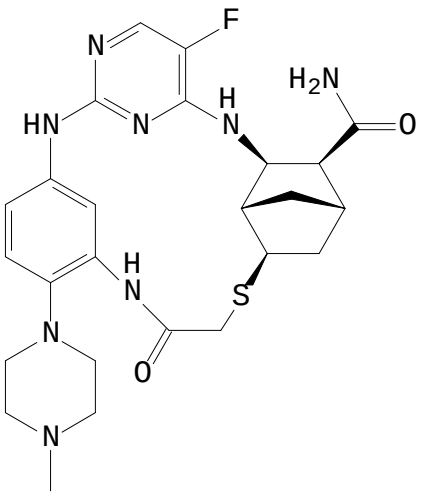
(1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-[(2-{[2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]amino}-2-oxoetil)tio]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



Se disolvió bromuro de bromoacetilo (80,87 µl; 0,93 mmoles) en DCM seco (2 ml) y se enfrió a 0°C. se agregó trietilamina (141,58 µl; 1,02 mmoles) en la mezcla de reacción, seguido por adición de 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitroanilina (200,00 mg; 0,85 mmoles) (disuelto en 2 ml de DMF). La mezcla se agitó a 0°C durante 1 h y se permitió que se calentara a rt durante 2 h. La mezcla se concentró y se secó para proporcionar 2-bromo-N-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]acetamida cruda. El aducto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

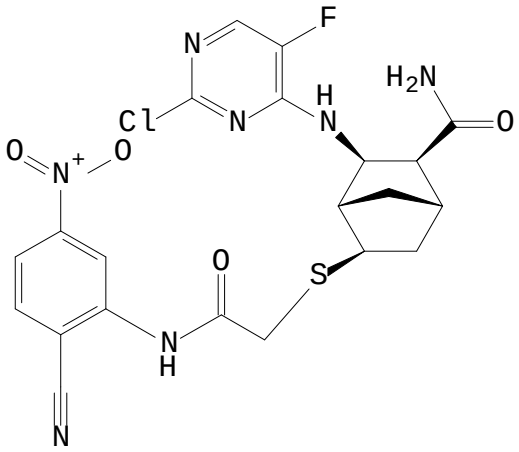
El compuesto del título se preparó con un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 18 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,55 min; m/z 593,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 24



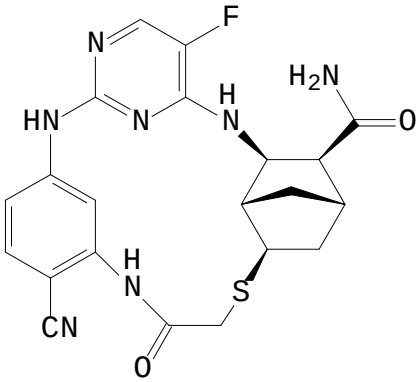
Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al que se describió en el ejemplo 18 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,60 min; m/z 527,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 25



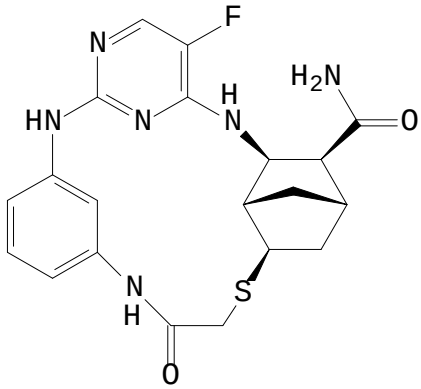
Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 25 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,60 min; m/z 519,9 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 26



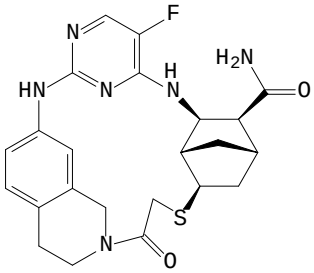
Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al que se describió en el ejemplo 25 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,07 min; m/z 454,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 27



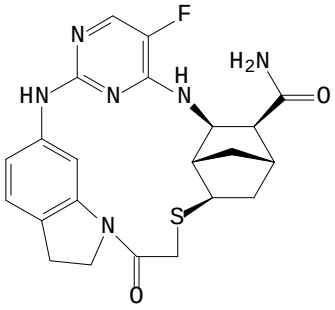
Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al que se describió en el ejemplo 25 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,65 min; m/z 429,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 28



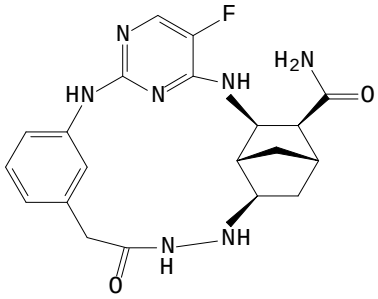
Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al que se describió en el ejemplo 25 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,71 min; m/z 469,4 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 29



Este compuesto se preparó con un procedimiento similar al que se describió en el ejemplo 25 precedente. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,82 min; m/z 455,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 30



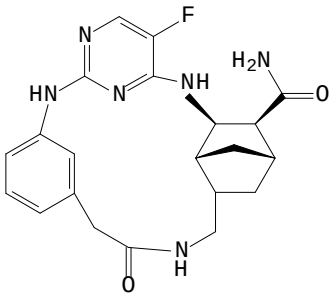
Utilizando el procedimiento similar al descrito en J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 11693-11712, se preparó una mezcla de 1-{(2R,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}hidrazina-1,2-dicarboxilato de diterbutilo y su isómero, 1-{(2S,5R,6S)-6-(aminocarbonil)-5-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}hidrazin-1,2-dicarboxilato de diterbutilo. De manera detallada, se disolvió $Mn(dpm)_3$ (6,05 mg; 0,01 mmoles) en iPrOH (2,50 ml) a rt bajo nitrógeno. La solución marrón oscuro se enfrió a 0°C en un baño con hielo. A la solución enfriada se le agregó (2S,3R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-5-eno-carboxamida (141,35 mg; 0,50 mmoles), (E)-diazeno-1,2-dicarboxilato de diterbutilo (172,70 mg; 0,75 mmoles) y fenilsilano (0,06 ml; 0,50 mmoles) en una porción. La suspensión resultante se agitó a 0°C durante 30 minutos y después se permitió que se calentara a rt Se dejó que la reacción procediera durante 5 h. La reacción se neutralizó con agua (1 ml). Después se agregó salmuera (5 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc, (3 veces, ~10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para proporcionar un residuo naranja claro. El residuo se aplicó a una cromatografía en fase normal para proporcionar 97 mg del producto deseado y su regioisómero (160 mg).

Un tubo de microondas equipado con una barra de agitación se cargó con 1-{(2S,5R,6S)-6-(aminocarbonil)-5-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}hidrazin-1,2-dicarboxilato de diterbutilo (113,00 mg; 0,22 mmoles) y ácido (3-aminofenil)acético (33,17 ,g: 0,22 mmoles) en iPrOH seco (2,00 ml). El frasco se selló y después se agregó por medio de una jeringa ácido trifluoroacético (0,04 ml; 0,55 mmoles; 2,50 equivalentes). La mezcla se

agitó a rt durante 5 h.

Se agregó un equivalente adicional de TFA y la reacción se sometió a reflujo durante la noche. La mezcla se concentró y se aplicó a HPLC de fase reversa preparativa para proporcionar el aducto macrocíclico deseado (4 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 0,37 min; m/z 412,2 (M + 1)].

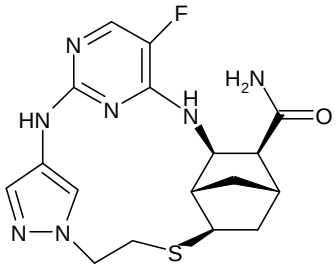
Ejemplo comparativo 31



A una solución con agitación de (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[(3-nitrofenil)acetil]amino}metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (18,75 mg; 0,04 mmoles) en etanol (10 ml) se agregó cloruro de amonio (21,03 mg; 0,39 mmoles), indio metálico (18,51 mg; 0,16 mmoles) y agua (5 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas. Después la temperatura se hizo descender a 70°C durante 12 horas adicionales. Se permitió que la reacción se enfriara hasta temperatura ambiente y después se filtró a través de una columna que absorbe agua y finalmente se concentró para proporcionar (1R,2S,3R,4R)-5-((2-(3-aminofenil)acetamido)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida cruda.

El paso de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del compuesto del producto final en el ejemplo 25 precedente para proporcionar este macrociclo deseado (1 mg, 7%). LC/MS [método B, tiempo de retención 1,6 min; m/z 411,3 (M + 1)].

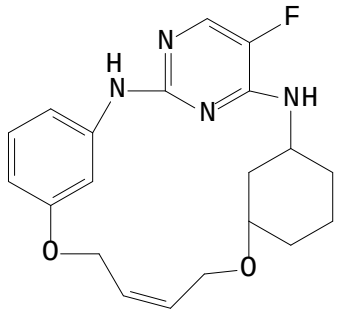
Ejemplo comparativo 32



Este compuesto de producto final se preparó utilizando un procedimiento similar al utilizado en el ejemplo 22 que en el compuesto del producto final precedente del ejemplo ???. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,6 min; m/z 390,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 33

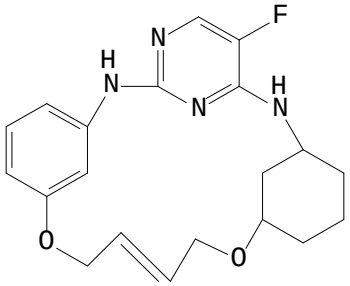
(16Z)-6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo-[18,3,1,1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,16,20,22-heptaeno



A una solución de N*4*-(3-aliloxi-ciclohexil)-N*2*-(3-aliloxi-fenil)-5-fluoro-pirimidin-2,4-diamina (70 mg, 0,18 mmoles) en diclorometano anhidro se agregó una solución de catalizador de Grubbs, 2ª generación, (22 mg, 0,03 mmoles) en diclorometano anhidro (90 ml). La reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase reversa preparativa para separar los dos productos principales de los cuales el compuesto que eluyó más lentamente era (16Z)-6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24), 3(26),4,6,16,20,22-heptaeno (sólido blanco, 1 mg). LC/MS [método B, tiempo de retención 5,15 min; m/z 371,4 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 34

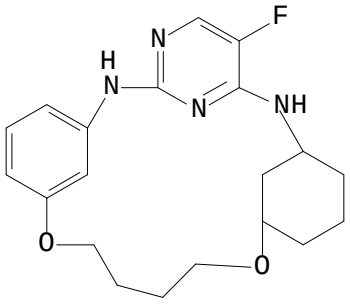
6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,16,20,22-heptaeno



Se preparó con el mismo procedimiento utilizado para el ejemplo 33. La HPLC de fase reversa preparativa separó los dos productos principales para proporcionar 6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo-[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,16,20,22-heptaeno como el compuesto que eluyó más rápido (sólido blanco, 1 mg). LC/MS [método, tiempo de retención 4,70 min; m/z 371,4 (M + 1)].

Ejemplo 35

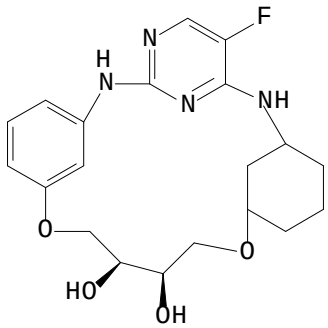
6-fluoro,14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,20,22-hexaeno



A una solución de 6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,20,22-hexaeno (10 mg, 0,03 mmoles) en 2 ml de EtOH se cargó con Pd/C (5 mg). La mezcla se agitó a rt bajo hidrógeno (1 atm). Después de 1 h la mezcla se filtró y se aplicó a HPLC preparativa de fase reversa para proporcionar el producto deseado (1 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 4,31 min; m/z 373,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 36

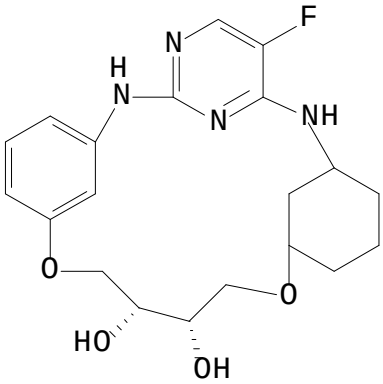
(16R,17S)-6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,20,22-hexaen-16,17-diol



A una suspensión de (16R,17S)-6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,20,22-hexaeno-16,17-diol (15 mg, 0,04 mmoles) y morfolin-N-óxido de 4-metilo (14 mg, 0,12 mmoles) en acetona/agua (4:1, 1 ml) se agregó tetraóxido de osmio (0,31 mg, 1,2 µmol). La mezcla se agitó durante 2 h. Después se filtró y se aplicó en HPLC preparativa de fase reversa para obtener dos aductos (este compuesto y el del siguiente ejemplo 37). No se determinó la esteroquímica de los grupos hidroxilo. Tentativamente fueron asignados como se dibuja en los esquemas de reacción. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,33 min; m/z 405,3 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 37

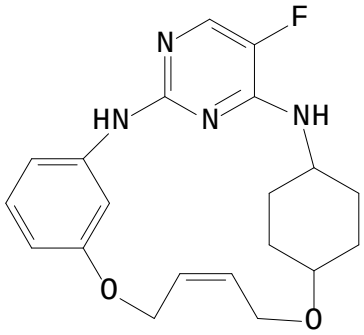
6-fluoro-14,19-dioxa-2,4,8,26-tetraazatetraciclo[18.3.1.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-1(24),3(26),4,6,16,20,22-heptaeno



La síntesis es como se describió en el ejemplo 36 anterior. No se determinó la estereoquímica de los grupos hidroxilo. Tentativamente fueron asignados como se dibuja en los esquemas. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,83 min; m/z 405,3 (M + 1)].

Ejemplo 38

(16Z)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno

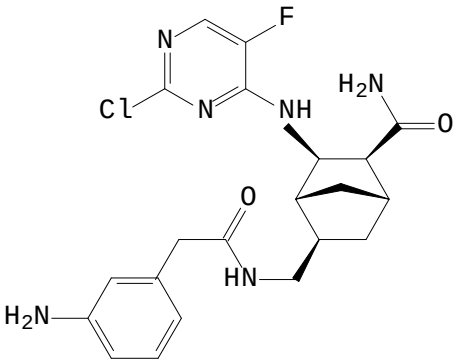


A una solución de N^4-(4-(aliloxi)ciclohexil)-N^2-(3-aliloxi)fenil)-5-fluoropirimidin-2,4-diamina, proporcionado en el ejemplo preparativo 11 (100 mg, 0,25 mmoles) en diclorometano anhidro se agregó una solución de catalizador de Grubbs, 2ª generación (32 mg, 0,04 mmoles) en diclorometano anhidro. La mezcla de reacción (volumen total de 125 ml) se calentó a reflujo durante 3 d y después se trató con catalizador de Hoveyda-Grubbs, 2ª generación (23,6 mg, 0,0376 mmoles). La mezcla de reacción después se calentó a reflujo durante otras 4 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase reversa preparativa para separar los dos productos principales, de los cuales el compuesto que eluyó más rápido era (16Z)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno (sólido blanco, 2,5 mg). LC/MS [método B, tiempo de retención 3,06 min; m/z 371,2 (M + 1)].

Compuestos macrocíclicos e intermediarios de síntesis adicionales

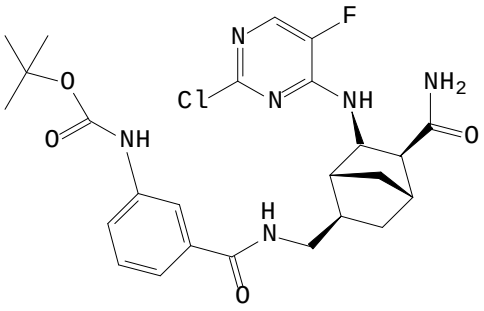
Ejemplo comparativo 39

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-((2-(3-aminofenil)acetamido)metil)-3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

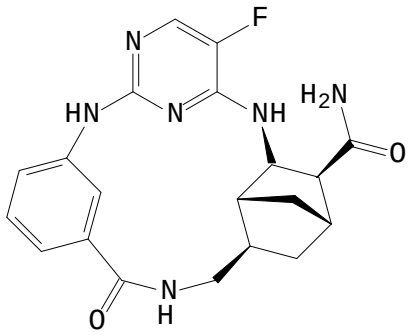


La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento A con (1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({2-[(3-nitro-fenil)amino]-2-oxoetil}tio)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (18,75 mg; 0,04 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (15 mg, 85%). LC/MS [método B, tiempo de retención 2,8 min; m/n 447,0 (M + 1)].

3-(((1R,4R,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il-amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-il)metilcarbamoil)fenilcarbamato de terbutilo 5



En un vial de centelleo equipado con una barra de agitación se disolvió ácido 3-[(terbutoxi-carbonil)amino]benzoico (0,16 ml; 0,70 mmoles) en DCM (5,00 ml). Se agregó por gotas 1-cloro-N,N-2-trimetilprop-1-en-1-amina (592,81 mg; 0,59 mmoles) mientras la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 90 minutos la mezcla de reacción se concentró y después se disolvió en DCM seco y se enfrió en un baño con hielo con agitación. A esta solución se le agregó N,N-dimetilpiridin-4-amina (0,04 ml; 0,36 mmoles) y (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (93,00 mg; 0,30 mmoles) y la reacción se agitó durante 10 horas. La mezcla de reacción después se concentró y se purificó por cromatografía instantánea para proporcionar el producto 5 puro (182 mg, 72%). LC/MS [método B, tiempo de retención 6,0 min; m/z 534,25 (M + 1)].



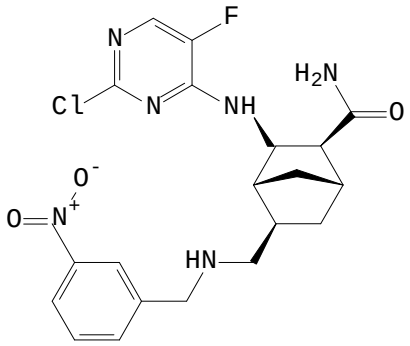
Ejemplo 39

La desprotección sucesiva del terbutoxicarbonilo y la etapa subsiguiente de cierre del anillo se realizaron en un recipiente, como se describió para el ejemplo 24, con (1R,2S,3R,4R)-5-[({[(3-aminofenil)amino]carbonil}amino)metil]-

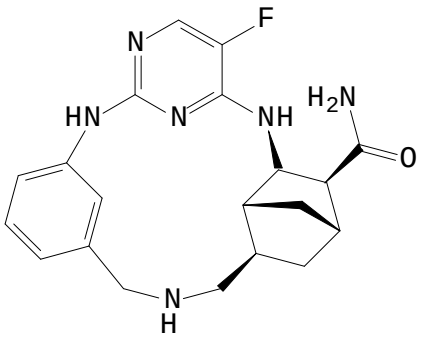
3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (158,60 mg; 0,30 mmoles) y un equivalente adicional de ácido trifluoroacético para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 39 (2,1 mg, 1,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención 2,8 min; m/z 397,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 40

(1R,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-nitrobencilamino)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (6)



En un matraz de fondo redondo con barra de agitación se colocó (155,6 mg, 0,5 mmoles), 1-(bromometil)-3-nitrobenceno (101,8 mg; 0,47 mmoles), carbonato de cesio (193,9 mg; 0,60 mmoles) y dimetilformamida (2,00 ml). El matraz se agitó para disolver su contenido, después se permitió que se agitara a temperatura ambiente hasta completar la reacción. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía instantánea utilizando 0-100% de acetato de etilo en hexano, seguido por un lavado de metanol-acetato de etilo 50% para proporcionar el producto deseado (106 mg, 47,8%) del producto puro. LC/MS [método B, tiempo de retención 2,8 min; m/z 449,25 (M + 1)].



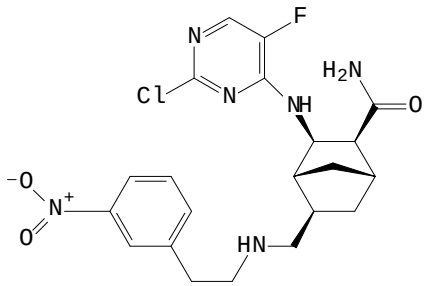
Ejemplo 40

La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento A con (1R,2S,3R,4R)-3-[2-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[(3-nitrobencil)-amino]metil}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (106,30 mg; 0,24 mmoles) para proporcionar la anilina deseada, la cual se utilizó inmediatamente en la etapa de cierre del anillo.

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R)-5-[({[(3-aminofenil)amino]carbonil}amino)metil]-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (158,60 mg; 0,30 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 40 (6,3 mg, 7,6%). LC/MS [método B, tiempo de retención 0,61 min; m/z 383,25 (M + 1)].

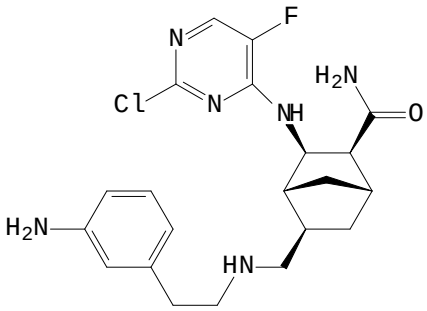
Ejemplo 41

(1R,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-nitrofenetil-amino)-metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida

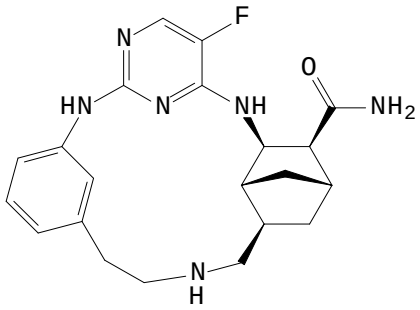


En un vial de centelleo con barra de agitación se colocó (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (136,60 mg; 0,44 mmoles; 1,00 equivalentes) y 4-metilbencensulfonato de 2-(3-nitrofenil)etilo (279,81 mg; 0,87 mmoles; 2,00 equivalentes). La mezcla se disolvió en 5,00 ml de MeCN y a la mezcla con agitación se agregó trietilamina (0,07 ml; 0,52 mmoles; 1,20 equivalentes). La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía instantánea utilizando acetato de etilo 0-100% en hexano, seguido por un lavado por descarga con metanol 50%-acetato de etilo para proporcionar el producto deseado (94,5 mg, 46,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,1 min; m/z 463,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R)-5-((3-aminofenetilamino)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción de grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento A con (1S,2S,3S,4S,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({2-[(3-nitro-fenil)amino]-2-oxoetil}tio)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida (94,50 mg; 0,20 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (62 mg, 70,2%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,62 min; m/z 433,25 (M + 1)].

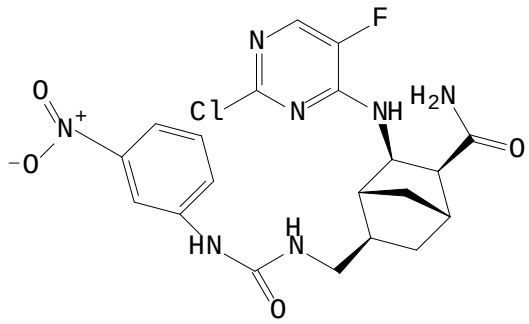


Ejemplo 41

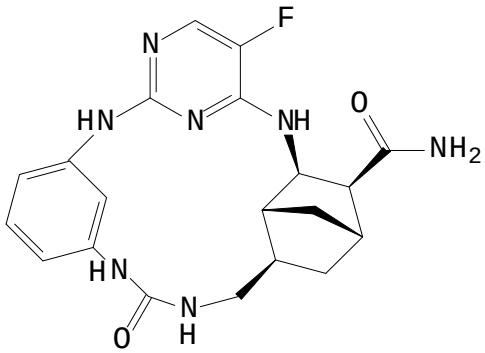
La etapa de cierre de anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R)-5-[({[(3-aminofenil)amino]carbonil}amino)metil]-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (24,20 mg; 0,05 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 41 (14,9 mg; 18,5%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,59 min; m/z 397,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 42

(1R,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-(3-nitrofenil)-ureido)metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida



En un vial de centelleo se disolvió (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (238,00 mg; 0,76 mmoles) en dimetilformamida (2,00 ml) y después se agregaron N,N-dietiletanamina (0,32 ml; 2,28 mmoles) y 1-isocianato-3-nitrobenceno (136,00 mg; 0,83 mmoles). La reacción se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía instantánea utilizando acetato de etilo 0-100% en hexano, seguido por un lavado con metanol-acetato de etilo 50% para proporcionar el producto deseado (143,6 mg, 39,6%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 5,6 min; m/z 478,0 (M + 1)].



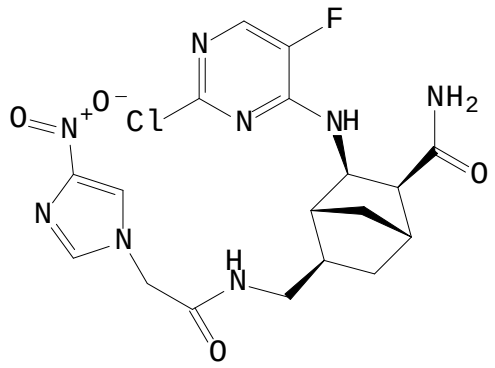
Ejemplo 42

La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento A con (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[(3-nitrobencil)-amino]metil}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (106,30 mg; 0,24 mmoles) para proporcionar la anilina deseada, la cual se utilizó inmediatamente en la etapa de cierre del anillo.

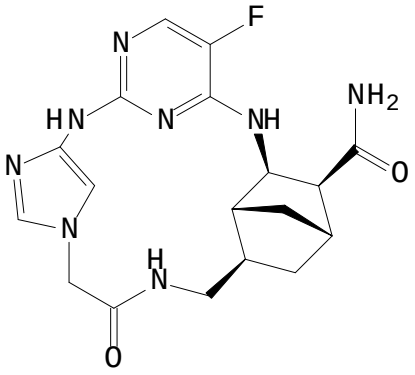
La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R)-5-[({[(3-aminofenil)amino]carbonil}amino)metil]-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)-amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (154,20 mg; 0,34 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 42 (21,4 mg, 15,1%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,8 min; m/z 412,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 43

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(4-nitro-1H-imidazol-1-il)acetamido)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (66,60 mg; 0,17 mmoles) y ácido 2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrobenzoico (90,19 mg; 0,34 mmoles) para proporcionar el producto deseado (72,4 mg, 72,7%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,9 min; m/z 467,25 (M + 1)].

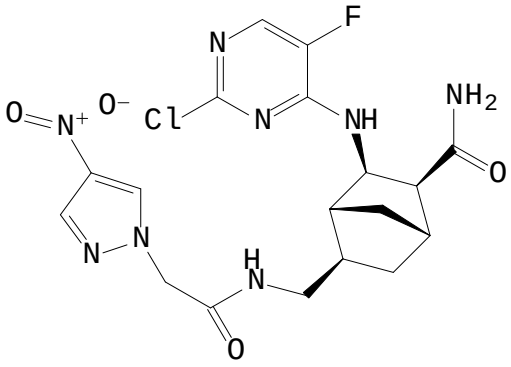


Ejemplo 43

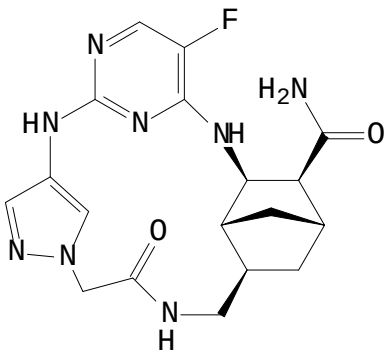
La reducción del grupo nitro y la etapa de formación de ciclo concomitante se realizó como se describió para el procedimiento A con (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-6-({[(3-nitrofenil)amino]-carbonil}amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,50 mg; 0,22 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 43 (70,9 mg, 46,6%). LC/MS [método A, tiempo de retención, 0,44 min; m/z 400,0 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 44

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(4-nitro-1H-pirazol-1-il)acetamido)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (63,70 mg; 0,17 mmoles) para proporcionar el producto deseado (79,4 mg, 62,6%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 4,4 min; m/z 467,25 (M + 1)].

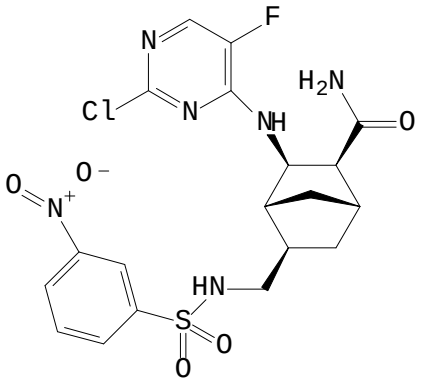


Ejemplo 44

Un tubo de microondas equipado con una barra de agitación se cargó con (1R,2S,3R,4R)-6-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (105,00 mg; 0,35 mmoles) y 2-metil-4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina (208,80 mg; 1,02 mmoles) en iPrOH seco (2,00 ml). El frasco se selló y se agregó por medio de una jeringa ácido trifluoroacético (0,04 ml; 0,55 mmoles). La reacción se sometió a reflujo durante 16 horas. La mezcla de reacción cruda se purificó por HPLC preparativa (Waters. columna Sunfire, gradiente: 0-30% de metanol en solución de ácido trifluoroacético (0,1 v/v)) para proporcionar el compuesto del ejemplo 44 (23 mg, 18%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,65 min; m/z 402,25 (M + 1)].

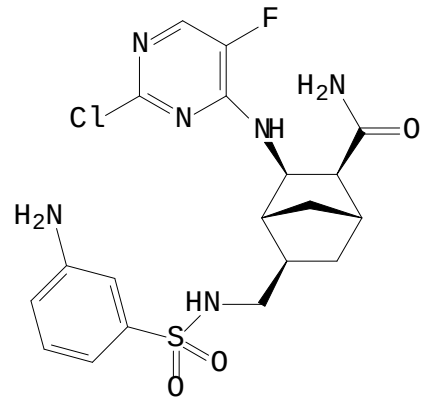
Ejemplo comparativo 45

(1R,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-nitrofenil-sulfonamido)metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida

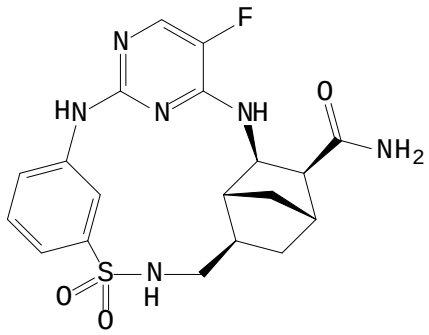


En un vial de centelleo equipado con una barra de agitación se disolvió (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg; 0,32 mmoles) en THF. A la solución se le agregó trietilamina (0,06 ml; 0,41 mmoles) y cloruro de 3-nitrobencensulfonilo (91,82 mg; 0,41 mmoles). El frasco se selló y se permitió que se agitara a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía instantánea utilizando un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano con un lavado de 0-50% de metanol en acetato de etilo para proporcionar el producto deseado (96,3 mg, 60,6%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 4,3 min; m/z 498,75 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R)-5-((3-aminofenilsulfonamido)metil)-3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[(3-nitrofenil)-sulfonil]amino}metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (93,00 mg; 0,19 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (87,4 mg, 85,1%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,4 min; m/z 469,25 (M + 1)].

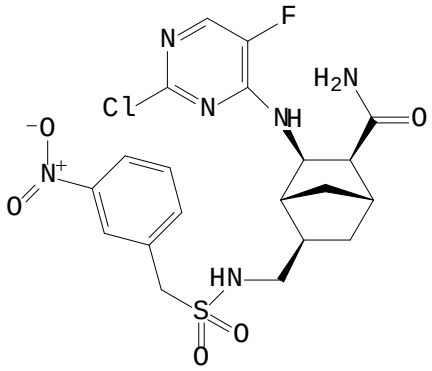


Ejemplo 45

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R)-5-({[(3-aminofenil)sulfonil]amino}metil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (93,00 mg; 0,20 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 43 (7,3 mg, 8,5%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,62 min; m/z 433,25 (M + 1)].

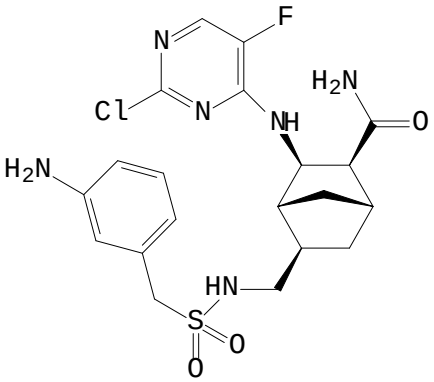
Ejemplo comparativo 46

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(((3-nitrofenil)-metilsulfonamido)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

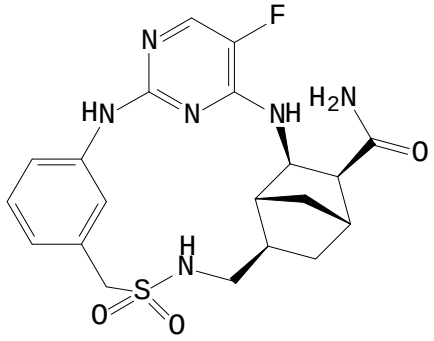


En un vial de centelleo equipado con una barra de agitación se disolvió (1R,2S,3R,4R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (98,20 mg; 0,32 mmoles) en THF. A la solución se le agregó trietilamina (0,06 ml; 0,41 mmoles) y cloruro de 3-nitro-α-toluensulfonilo (97,63 mg; 0,41 mmoles). El frasco se selló y se permitió que se agitara a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía instantánea utilizando un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano con un lavado de 0-50% de metanol en acetato de etilo para proporcionar el producto deseado (58,3 mg, 35,7%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 4,2 min; m/z 513,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-(((3-aminofenil)metil-sulfonamido)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[(3-nitrobencil)-sulfonil]amino}metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida (53,10 mg; 0,10 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (46,7 mg, 93,4%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,3 min; m/z 483,25 (M + 1)].

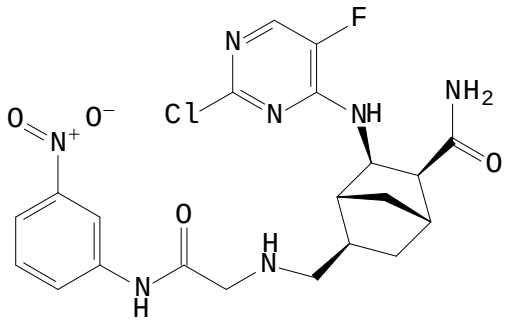


Ejemplo 46

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-({[3-aminobencil)sulfonil]amino}metil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (46,90 mg; 0,10 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 46 (43,4 mg, 6,3%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,7 min; m/z 447,25 (M + 1)].

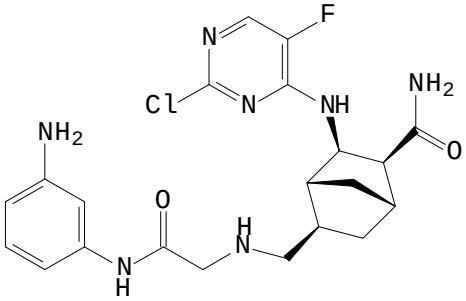
Ejemplo comparativo 47

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(3-nitrofenil-amino)-2-oxoetilamino)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

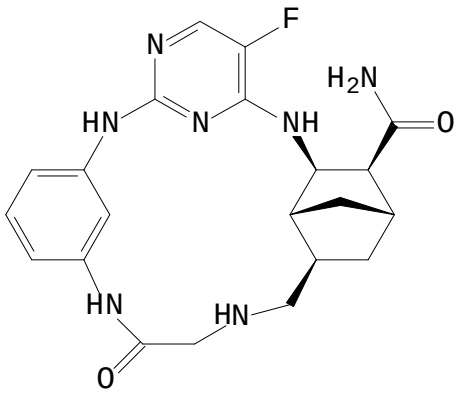


En un vial para microondas con barra de agitación se disolvió (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(amino-metil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (66,90 mg; 0,21 mmoles), 2-cloro-N-(3-nitrofenil)-acetamida (50,33 mg; 0,23 mmoles), carbonato de cesio (0,04 ml; 0,53 mmoles) en 3,00 ml de tetrahidrofurano. El vial se colocó en un horno de microondas durante 16 minutos a 100°C. La mezcla de reacción se purificó por medio de HPLC preparativa Waters utilizando un gradiente de 0-30% de metanol en agua durante 30 minutos para proporcionar el producto deseado (73,2 mg, 69,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,4 min; m/z 492,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-((2-(3-aminofenilamino)-2-oxoetilamino)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió por el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(3-nitrofenil-amino)-2-oxoetilamino)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (34,8 mg, 0,07 mmoles) para proporcionar la anilina deseada. LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,63 min; m/z 462,25 (M + 1)].

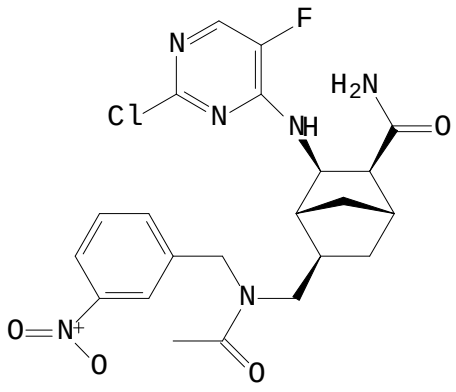


Ejemplo 47

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-((2-(3-aminofenilamino)-2-oxoetilamino)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (34,3 mg, 0,07 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 47 (13,9 mg, 44%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,56 min; m/z 426,25 (M + 1)].

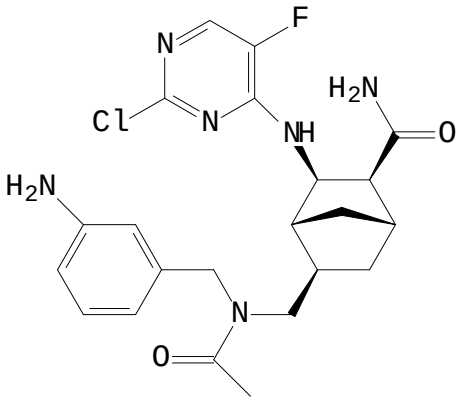
Ejemplo comparativo 48

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((N-(3-nitrobencil)-acetamido)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

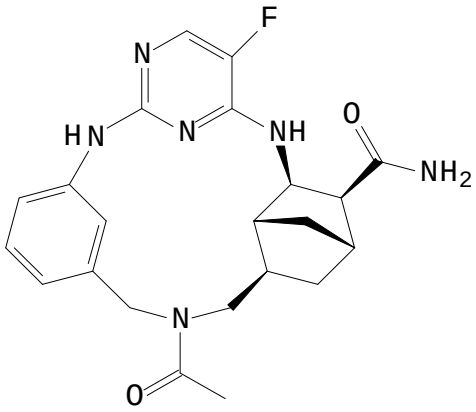


En un matraz de fondo redondo seco y limpio equipado con una barra de agitación se disolvió (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[(3-nitrobencil)-amino]metil}-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (141,20 mg; 0,31 mmoles)en 5,00 ml de THF. A la mezcla se le agregó N,N-dietiletanamina (0,09 ml; 0,63 mmoles) seguido por cloruro de acetilo (0,03 ml; 0,47 mmoles) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla de reacción concentrada se purificó por HPLC preparativa utilizando un gradiente de 0-30% en metanol en una solución de ácido trifluoroacético 0,1% (acuoso) durante 30 minutos para proporcionar el producto deseado (128,3 mg, 83%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,8 min; m/z 491,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R)-5-((N-(3-aminobencil)acetamido)-metil)-3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-ilamino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((N-(3-nitrobencil)-acetamido)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (128,3 mg, 0,29 mmoles) para proporcionar la anilina deseada. LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,3 min; m/z 461,25 (M + 1)].

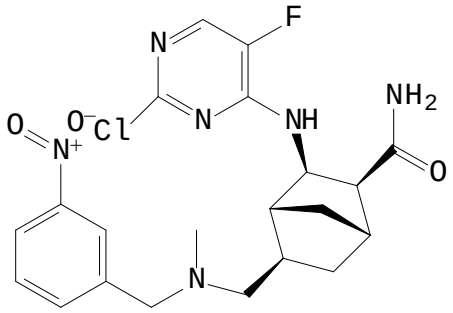


Ejemplo 48

La etapa de cierre de anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R)-5-((N-(3-aminobencil)acetamido)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (128,3 mg, 0,28 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 48 (53,5 mg, 45,4%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,86 min; m/z 425,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 49

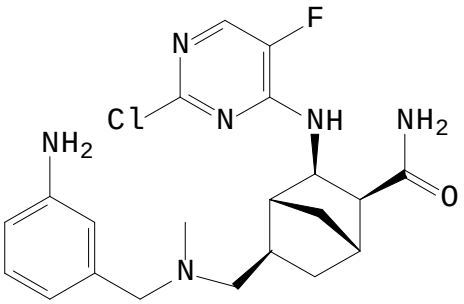
(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((metil(3-nitro-bencil)amino)metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida



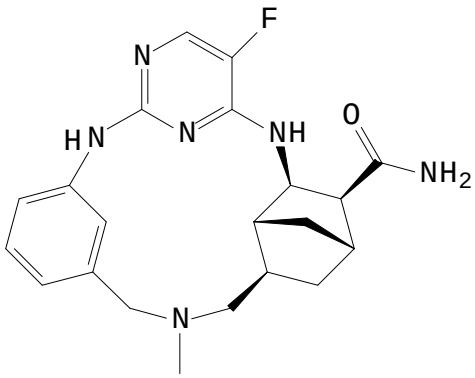
A una solución de (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[(3-nitrobencil)amino]metil}-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (62,00 mg; 0,14 mmoles) en 10,00 ml de metanol se agregó una solución 37% (ac.) de AcC (15,42 µl; 0,21 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que se completó la formación de la imina, determinado por CCD. Se concentró la mezcla de reacción para eliminar el agua, después se tomó el residuo en metanol y se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (87,82 mg; 0,41 mmoles) con una gota de

ácido acético. La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró y después se sometió directamente a la reducción nitro. LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,1 min; m/z 463,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-(((3-aminobencil)(metil)amino)-metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-{[metil(3-nitrobencil)amino]metil}biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (64,80 mg; 0,14 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (55 mg, 90,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 071 min; m/z 433,25 (M + 1)].

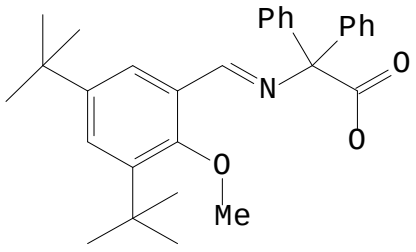


Ejemplo 49

La etapa de cierre de anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(((3-aminobencil)(metil)amino)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (55 mg, 0,13 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 49 (3 mg, 5,5%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,61 min; m/z 397,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 50

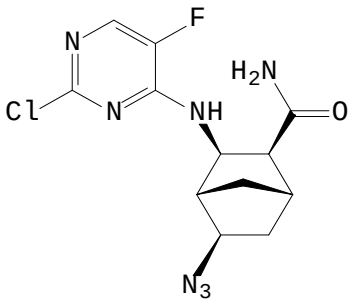
acetato de (E)-2-(3,5-di-terbutil-2-metoxibencilidenamino)-2,2-difenilo



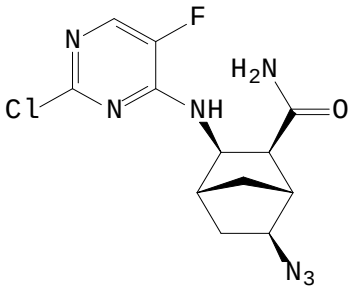
En un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con una barra de agitación se colocó ácido amino(difenil)acético (1,07 g; 4,69 mmoles), EtOH (50,00 ml) e hidróxido de potasio (0,26; 4,69 mmoles). Se permitió que la suspensión se agitara a temperatura ambiente durante 30 minutos. Al matraz de reacción se le agregó 3,5-di-terbutil-2-hidroxibenzaldehído (1,00 g; 4,27 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas, y después se separó el solvente al vacío y después se secó adicionalmente bajo alto vacío durante 8 horas para

proporcionar un sólido amarillo higroscópico (1,87 g; 90,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,2 min].

(1S,2S,3R,4S,5R)-5-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida y (1R,2S,3R,4R,6S)-6-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

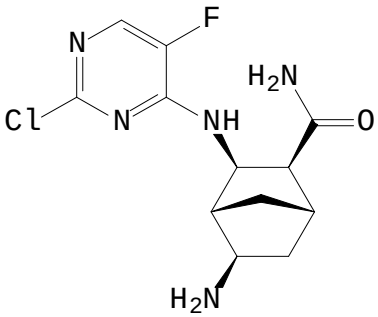


y



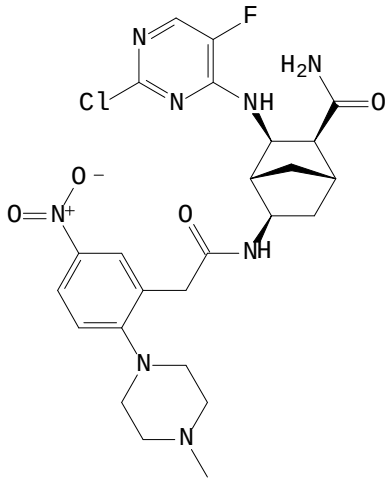
Se disolvieron en EtOH (2,50 ml) borofluoruro de cobalto (II) hexahidrato (10,22 mg; 0,03 mmoles) y {[(1E)-(3,5-di-terbutil-2-hidroxifenil)metilen]amino}(difenil)-acetato de potasio (14,45 mg; 0,03 mmoles) a temperatura ambiente durante 10 minutos, bajo argón. A la solución se le agregó (2S,3R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (141,35 mg; 0,50 mmoles) seguido por 4-metilbencensulfonilazida unida a poliestireno (500,00 mg; 0,75 mmoles; 1,5 mmoles/g de carga) e hidroperóxido de terbutilo (0,03 ml; 5,50 M; 0,14 mmoles). Después de 5 minutos de agitación se agregó por gotas hexametildisiloxano (0,16 ml; 0,75 mmoles) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se neutralizó con agua DI (5 ml), se filtró utilizando un tapón de sílice y después se diluyó con 50 ml de EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con una solución saturada de bicarbonato de sodio (ac.). La capa acuosa se volvió a extraer dos veces con ~50 de EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces en solución de salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se tomó en 3 ml de DMSO, se inyectó en una columna de HPLC preparativa y se separó en columna de fase inversa utilizando un gradiente de 0%-100% de ACN en una solución de TFA (acuosa) 0,1% para proporcionar la (1S,2S,3R,4S,5R)-5-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida, LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,7 min; m/z 300,00 (M + 1)]; y (1R,2S,3R,4R,6S)-6-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida, LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,8 min; m/z 300,00 (M + 1)].

(1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



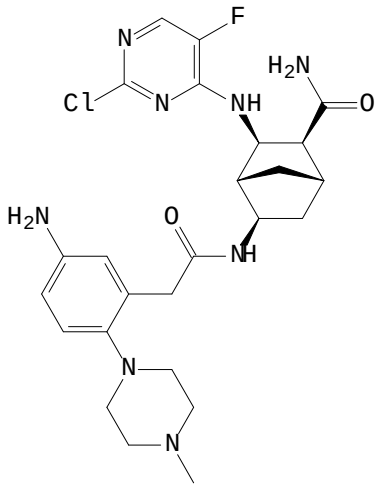
A una solución de (1S,2S,3R,4S,5R)-5-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (20,9 g, 63,7 mmoles) en 400 ml de THF se agregó PPh2 (33,4 g, 127,3 mmoles) y agua (46 ml) y la mezcla de reacción se agitó a rt durante 2 días. La mezcla se concentró y se tomó en 200 ml de HCl 1 N y se extrajo con 300 ml de etiléter, 2 veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con HCl 1 N (150 ml). Las capas acuosas combinadas se retro extraen con EtOAc (100 ml) y se basificaron con KOH hasta pH 10. La mezcla se extrajo sucesivamente con EtOAc (200 ml X2)), para proporcionar el aducto crudo. El material crudo se aplicó a una cromatografía de gel de sílice para proporcionar el aducto deseado (8,9 g, 22%).

(1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-(2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrofenil)-acetamido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

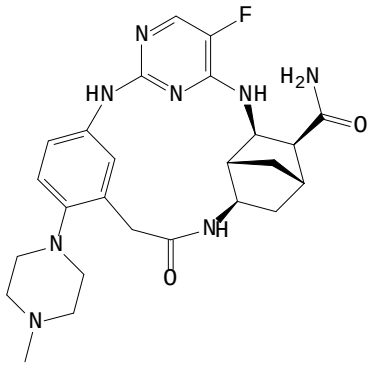


La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con ácido [2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]acético (160,25 mg; 0,57 mmoles), hexafluoro-fosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-n,n,n',n'-tetrametiluronio (163,62 mg; 0,43 mmoles), trifluoroacetato de (1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-aminio (118,70 mg; 0,29 mmoles) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,24 ml; 1,43 mmoles) en 3,00 ml de dimetilformamida para proporcionar el producto deseado (64,2 mg, 39,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,9 min; m/z 561,25 (M + 1)].

(1S,2S,3R,4R,5R)-5-(2-(5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)acetamido)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1S,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrofenil]acetil}amino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (64,20 mg; 0,11 mmoles) para proporcionar la anilina deseada. LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,58 min; m/z 531,25 (M + 1)].

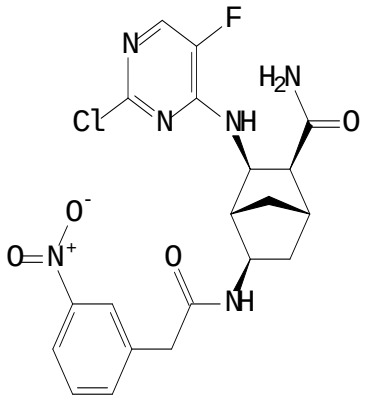


Ejemplo 50

La etapa de cierre de anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1S,2S,3R,4R,5R)-5-({[5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)-fenil]acetil}-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (59,20 mg; 0,11 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 50 (2,9 mg, 5,3%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,74 min; m/z 495,25 (M + 1)].

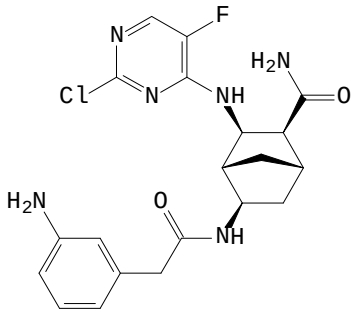
Ejemplo comparativo 51

(1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-(3-nitrofenil)-acetamido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

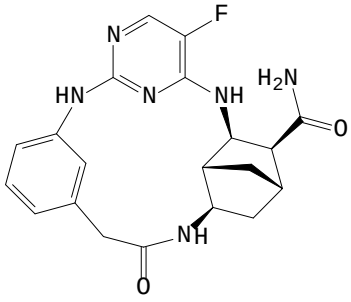


La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con ácido (3-nitrofenil)acético (80,21 mg; 0,44 mmoles), hexafluoro-fosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-n,n,n',n'-tetrametiluronio (126,27 mg; 0,33 mmoles), trifluoroacetato de (1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-aminio (91,60 mg; 0,22 mmoles) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,18 ml; 1,11 mmoles) en dimetilformamida (3,00 ml) para proporcionar el producto deseado (59 mg, 57,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,9 min; m/z 463,25 (M + 1)].

(1S,2S,3R,4R,5R)-5-(2-(3-aminofenil)acetamido)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1S,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrofenil]acetil}amino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (64,20 mg; 0,11 mmoles) para proporcionar la anilina deseada. LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,1 min; m/z 433,25 (M + 1)].

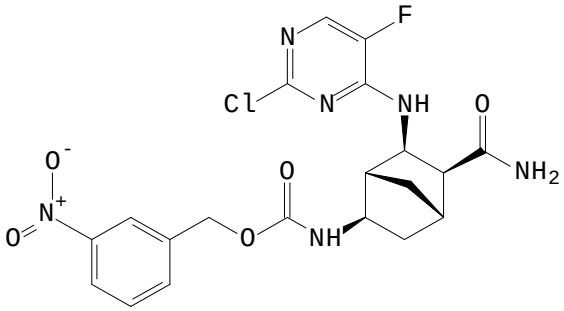


Ejemplo 51

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1S,2S,3R,4R,5R)-5-{[(3-aminofenil)acetil]amino}-3-[(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (59,20 mg; 0,14 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 51 (4,4 mg, 8,1%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,4 min; m/z 397,25 (M + 1)].

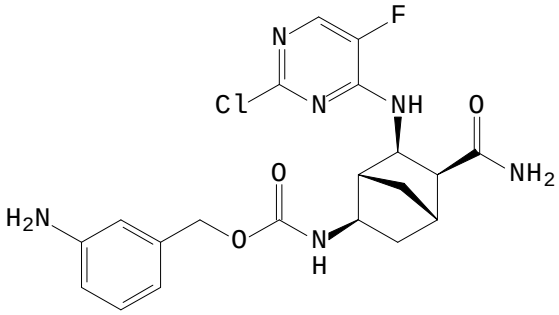
Ejemplo comparativo 52

(1R,2R,4S,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-ilcarbamato de 3-nitrobencilo

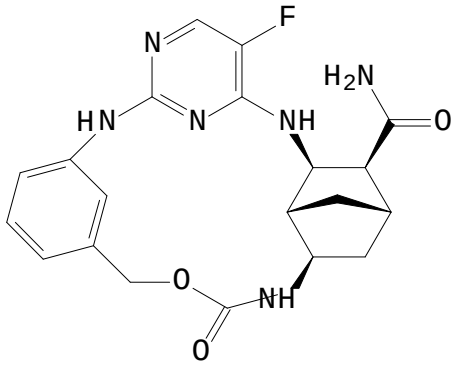


La formación del carbamato se realizó como se describió para el procedimiento D con (3-nitrofenil)metanol (0,06 ml; 0,48 mmoles) en 3,00 ml de tolueno, N,N-dietiletanamina (0,13 ml; 0,97 mmoles), clorurocarbonato de 4-nitrofenilo (0,13 ml; 0,97 mmoles) y (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg; 0,33 mmoles) en 1 ml de dimetilformamida para proporcionar el carbamato deseado (19,4 mg, 16,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 4,4 min; m/z 479,25 (M + 1)].

(1R,2R,4S,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-ilcarbamato de 3-aminobencilo



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con {(1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}carbamato de 3-nitrobencilo (19,40 mg; 0,04 mmoles) en 20,00 ml de metanol para proporcionar la anilina deseada (15,9 mg, 87,4%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,9 min; m/z 449,25 (M + 1)].

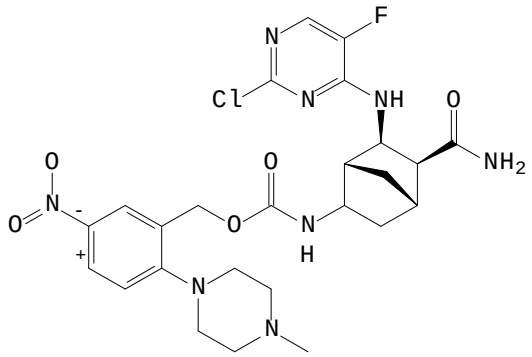


Ejemplo 52

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con {(1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}carbamato de 3-aminobencilo (22,90 mg; 0,05 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 52 (1 mg, 3,3%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,5 min; m/z 413,25 (M + 1)].

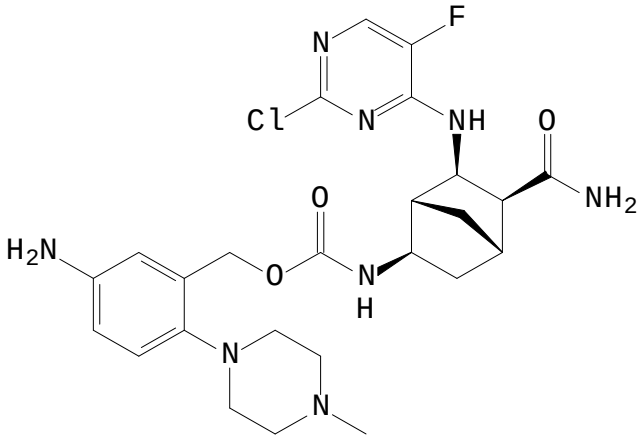
Ejemplo comparativo 53

(1R,2R,4S,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-ilcarbamato de 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobencilo

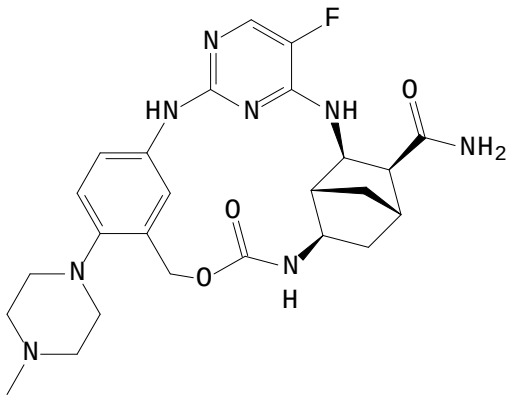


La formación del carbamato se realizó como se describió para el procedimiento D con [2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]metanol (167,67 mg; 0,67 mmoles) en 3,00 ml de tolueno, N,N-dietiletanamina (0,09 ml; 0,67 mmoles), clorurocarbonato de 4-nitrofenilo (134,50 mg; 0,67 mmoles) y (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg; 0,33 mmoles) en 1 ml de dimetilformamida para proporcionar el carbamato deseado (95,2 mg, 49,5%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,5 min; m/z 577,25 (M + 1)].

(1R,2R,4S,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-ilcarbamato de 5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)bencilo



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con {(1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}carbamato de 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobencilo (95,20 mg; 0,16 mmoles) en 20,00 ml de metanol para proporcionar la anilina deseada (60,4 mg, 66,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,66 min; m/z 547,25 (M + 1)].

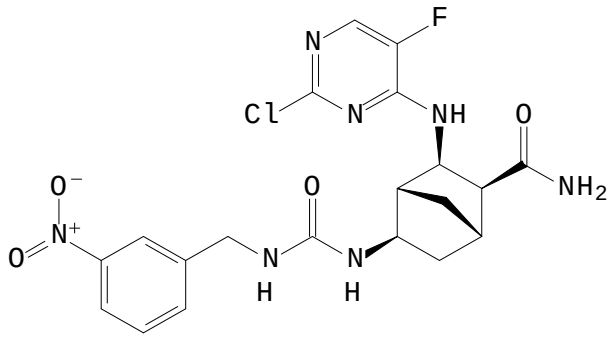


Ejemplo 53

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con ácido clorhídrico (0,60 ml; 4,00 M; 19,75 mmoles; 4,0 M en dioxano) y {(1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-il}carbamato de 5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)bencilo (60,40 mg; 0,11 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 53 (4,9 mg, 8,7%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,62 min; m/z 511,25 (M + 1)].

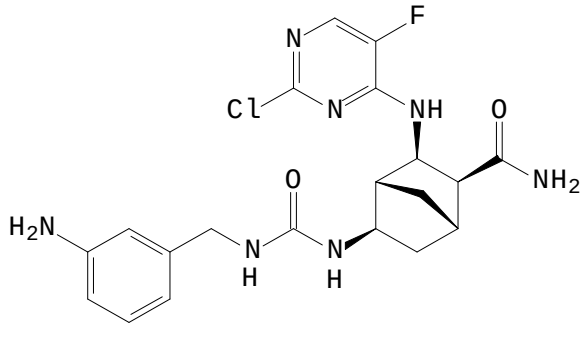
Ejemplo comparativo 54

(1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(3-(3-nitrobencil)ureido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

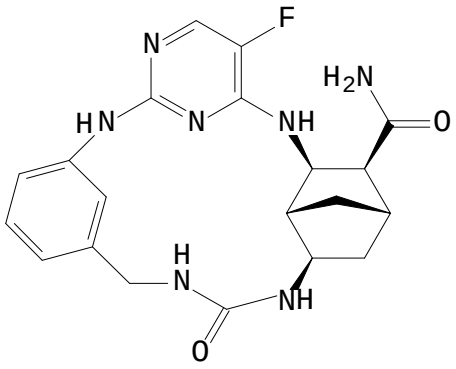


La formación de urea se realizó como se describió para el procedimiento D con cloruro de (3-nitrofenil)metanaminio (45,59 mg; 0,24 mmoles) en THF (3,00 ml), N,N-dietiletanamina (0,07 ml; 0,48 mmoles), clorurocarbonato de 4-nitrofenilo (48,72 mg; 0,24 mmoles) y trifluoroacetato de (1R,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-aminio (50,00 mg; 0,12 mmoles) en 1 ml de dimetilformamida para proporcionar la urea deseada (50,7 mg, 87,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 3,8 min; m/z 478,25 (M + 1)].

(1S,2S,3R,4R,5R)-5-(3-(3-aminobencil)ureido)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(3-(3-nitrobencil)ureido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (50,70 mg; 0,11 mmoles) en metanol (20,00 ml) para proporcionar la anilina deseada (32 mg, 67,3%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,1 min; m/z 448,25 (M + 1)].

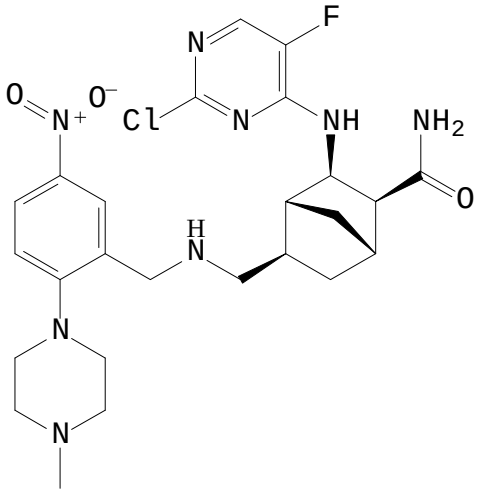


Ejemplo 54

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1S,2S,3R,4R,5R)-5-({[(3-aminobencil)amino]carbonil}amino)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (30,00 mg; 0,07 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 54 (10,1 mg, 36,7%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,72 min; m/z 412,25 (M + 1)].

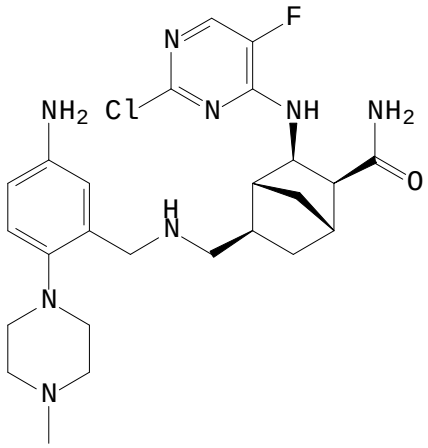
Ejemplo comparativo 55

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrobencilamino)-metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

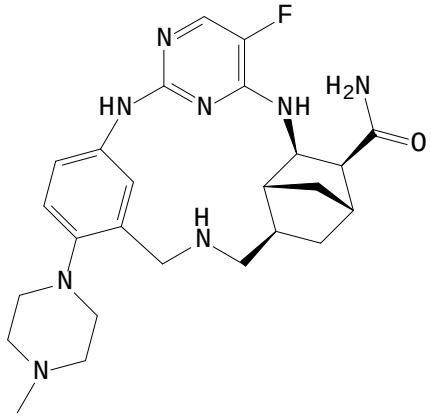


A una solución de (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida (125,20 mg; 0,40 mmoles) en metanol se agregó 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobenzaldehído (246,63 µl; 0,40 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. A la solución se le agregó triacetoxiborohidruro de sodio (253,71 mg; 1,20 mmoles) con una gota de ácido acético y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla cruda se purificó por cromatografía instantánea para proporcionar el producto deseado (115,4 mg, 52,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,62 min; m/z 547,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-((5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)bencilamino)metil-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobencil]amino}metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (45,00 mg; 0,08 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (42,5 mg, 39,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,57 min; m/z 517,25 (M + 1)].

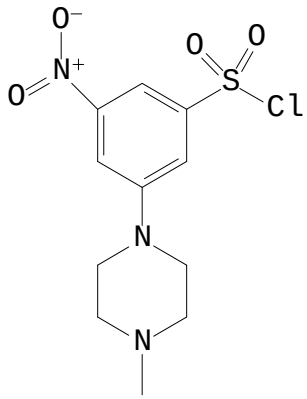


Ejemplo 55

La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-({[5-amino-2-(4-metilpiperazin-1-il)bencil]amino}-metil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (59,20 mg; 0,11 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 55 (13,7 mg, 24,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,56 min; m/z 481,25 (M + 1)].

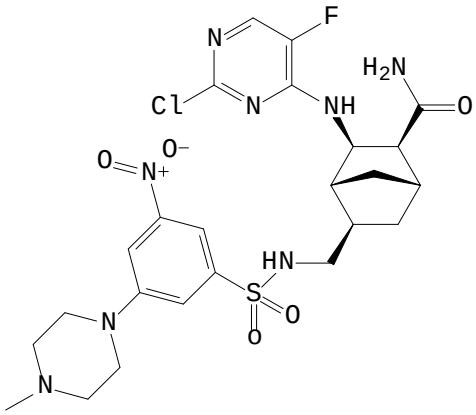
Ejemplo comparativo 56

cloruro de 3-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobencen-1-sulfonilo



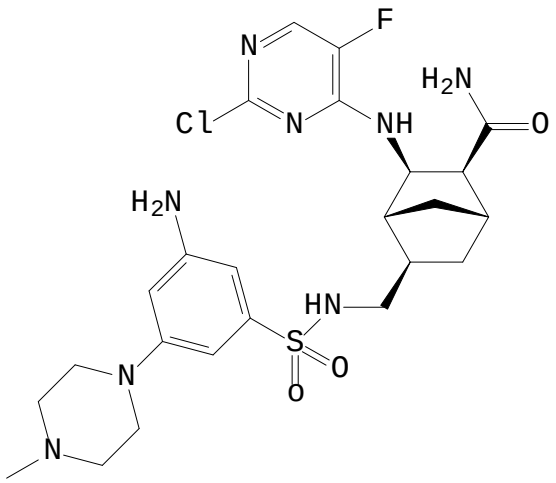
En un matraz de fondo redondo seco equipado con barra de agitación se agregó 3-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitroanilina (0,50 g; 2,12 mmoles) en una porción a una mezcla de ácido clorhídrico concentrado (0,71 ml; 23,28 mmoles) y ácido acético glacial (0,21 ml; 3,70 mmoles). El matraz de fondo redondo después se sumergió en un baño de hielo seco-etanol y cuando la solución alcanzó -10°C se le agregó por gotas una solución de 10 M de nitrito de sodio acuoso (0,07 ml; 2,33 mmoles) a una velocidad tal que la temperatura permanece en -5°C. Después de agregar por completo la solución de sodio, la mezcla se agitó durante 45 minutos. Cuando se completa la diazotinación, se preparó una solución saturada de óxido de oxosulfano al burbujear dióxido de azufre gaseoso (50,00 ml; 100,00 V) en 2 ml de ácido acético glacial. Después se agregó cloruro de cobre (I) (24,75 mg; 0,25 mmoles) a la solución de dióxido de azufre mientras el dióxido de azufre continua burbujeando en el interior de la solución. Después de 30 minutos el matraz que contiene la solución de dióxido de azufre saturada y con agitación se colocó en un baño con hielo y se enfrió a 10°C, en donde sobre la mezcla de reacción de diazotización se agregó en porciones durante un período de 30 min. La mezcla combinada se agitó, se enfrió hasta que no se observó evolución de gas. La mezcla de reacción agotada se concentró a un residuo bajo alto vacío y se utilizó sin purificación adicional.

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrofenil-sulfonamido)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

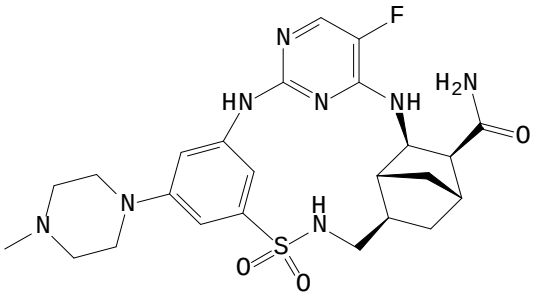


En un vial de centelleo equipado con una barra de agitación se disolvió (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg; 0,32 mmoles) en THF. A la solución se le agregó trietilamina (0,06 ml; 0,41 mmoles) y cloruro de 3-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitro-bencensulfonilo (132,49 mg; 0,41 mmoles). Se selló el vial y se permitió que se agite a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla de reacción concentrada se purificó por medio del RP-HPLC preparativa utilizando un gradiente de 0-30% de metanol en una solución 0,1% de ácido trifluoroacético (acuosa) durante 30 minutos para proporcionar el producto deseado (119 mg, 62,6%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,3 min; m/z 597,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-((3-amino-5-(4-metilpiperazin-1-il)fenilsulfonamido)-metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-[({[3-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]sulfonil}amino)-metil]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (119,00 mg; 0,2 mmoles) para proporcionar la anilina deseada (32 mg, 67,3%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 1,1 min; m/z 567,25 (M + 1)].

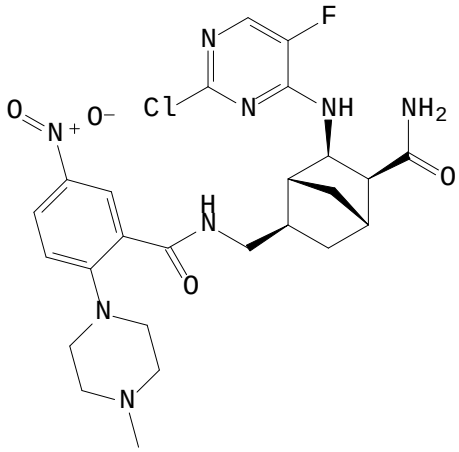


Ejemplo 56

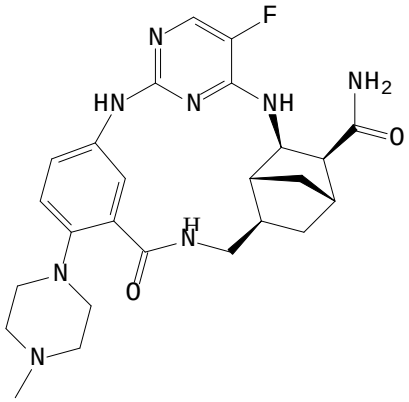
La etapa de cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-[({[3-amino-5-(4-metilpiperazin-1-il)fenil]sulfonil}-amino)metil]-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (99,00 mg; 0,17 mmoles) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 56 (6,3 mg, 6,8%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,65 min; m/z 531,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 57

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrobenzamido)-metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (93,25 mg; 0,30 mmoles) y ácido 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrobenzoico (90,19 mg; 0,34 mmoles) para proporcionar el producto deseado (120,6 mg, 72%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,63 min; m/z 561,25 (M + 1)].

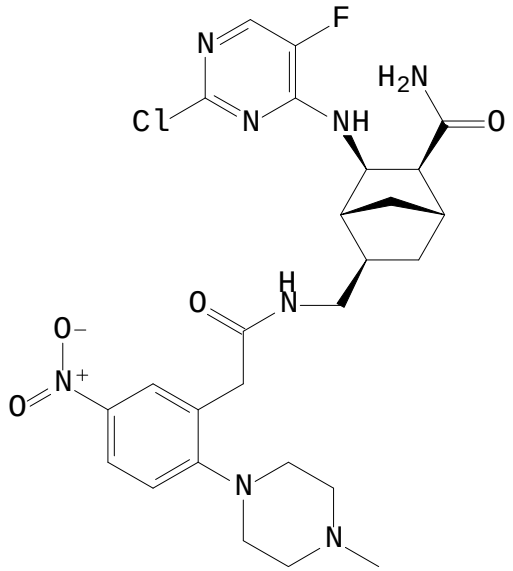


Ejemplo 57

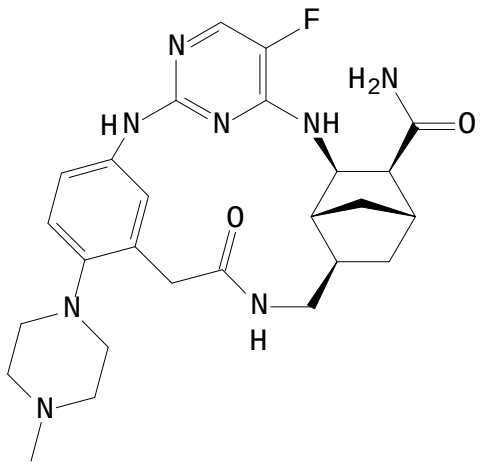
La reducción del grupo nitro y las etapas de ciclización concomitantes se realizaron como se describió para el procedimiento A con (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-6-({[(3-nitrofenil)amino]-carbonil}amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,50 mg; 0,22 mmoles) para proporcionar el compuesto del ejemplo 57 (3 mg, 3,5%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,56 min; m/z 495,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 58

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-(2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitrofenil)-acetamido)metil)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



La reacción de amidación se realizó como se describió para el procedimiento C con ácido [2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenil]acético (106,82 mg; 0,38 mmoles) y (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (60,00 mg; 0,19 mmoles) para proporcionar el producto deseado (96 mg, 87%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,9 min; m/z 575,25 (M + 1)].

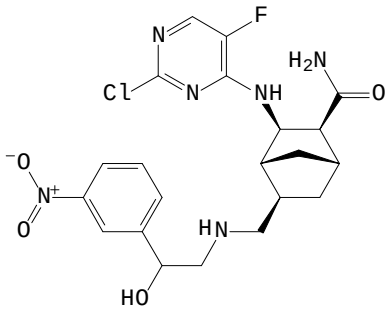


Ejemplo 58

La reducción del grupo nitro y las etapas de ciclización concomitantes se realizaron como se describió para el procedimiento A con (1R,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-6-({[(3-nitrofenil)amino]-carbonil}amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,50 mg; 0,22 mmoles) para proporcionar el compuesto del ejemplo 58 (2,1 mg, 2,4%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,59 min; m/z 509,25 (M + 1)].

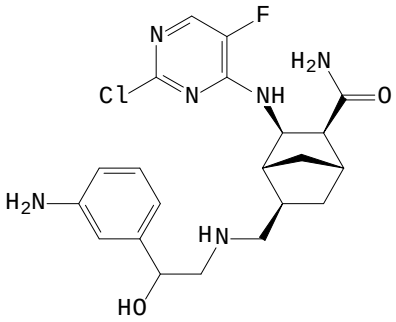
Ejemplo comparativo 59

(1R,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((2-hidroxi-2-(3-nitrofenil)etilamino)metil)-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida

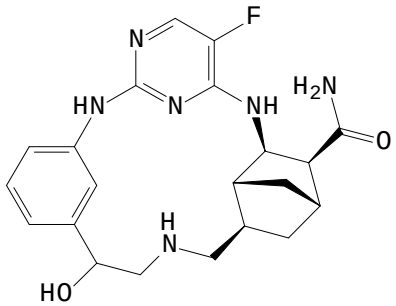


En un matraz se agregó carbonato de dicesio (181,73 mg; 0,56 mmoles) a una solución con agitación de 2-(3-nitrofenil)oxirano (40,53 mg; 0,25 mmoles) y (1R,2S,3R,4R,5R)-5-(aminometil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (70,00 mg; 0,22 mmoles) en dimetilformamida (3,00 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 días. La mezcla de reacción después se concentró y se purificó por HPLC RP preparativa para proporcionar el producto deseado (5,6 mg, 5,2% de rendimiento). LC/MS [método B, tiempo de retención, 2,3 min; m/z 479,25 (M + 1)].

(1R,2S,3R,4R,5R)-5-((2-(3-aminofenil)-2-hidroxietilamino)metil)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida



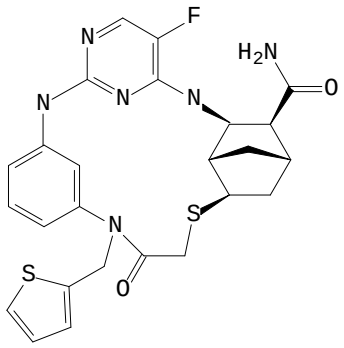
La etapa de reducción del grupo nitro se realizó como se describió para el procedimiento B con (1R,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({[2-hidroxi-2-(3-nitrofenil)etil]amino}metil)biciclo[2.2.1]-heptan-2-carboxamida (5,00 mg; 0,01 mmoles) para proporcionar la anilina deseada. LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,57 min; m/z 449,25 (M + 1)].



Ejemplo 59

La etapa del cierre del anillo se realizó como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con (1R,2S,3R,4R,5R)-5-({[2-(3-aminofenil)-2-hidroxietil]amino}-metil)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (4,6 mg; 0,02 mmoles; 1,00 equivalentes) para proporcionar el macrociclo deseado del ejemplo 59 (1,8 mg, 43,9%). LC/MS [método B, tiempo de retención, 0,6 min; m/z 413,25 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 60

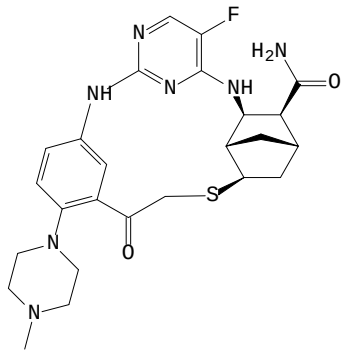


Ejemplo 60

A la mezcla de etantioato de S-{(1S,2R,4S,5S,6S)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-ilo} (200,00 mg; 0,56 mmoles; 1,00 equivalente) en MeOH, se agregaron 0,15 ml de MeONa (30% en MeOH). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. se agregó a la mezcla 2-cloro-N-(3-nitrofenil)-N-(2-tienilmetil)acetamida (173,21 mg; 0,56 mmoles; 1,00 equivalente) y se agitó durante la noche. La mezcla se co-rotoevaporó con gel de sílice. El residuo resultante se aplicó a una columna de gel de sílice (0% a 100% de hexano/acetato de etilo, después 0% a 50% de MeOH/acetato de etilo) para proporcionar 2-cloro-N-(3-nitro-fenil)-N-tiofen-2-ilmetil-acetamida.

La reducción nitro y las siguientes etapas de cierre de anillo se realizaron como se describió para la síntesis del ejemplo 24 con 2-cloro-N-(3-nitro-fenil)-N-tiofen-2-ilmetil-acetamida para proporcionar el macrociclo del ejemplo 60. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,8 min; m/z 525,1 (M+1)].

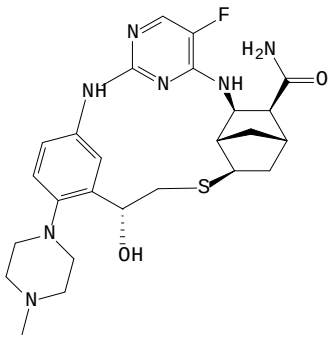
Ejemplo comparativo 61



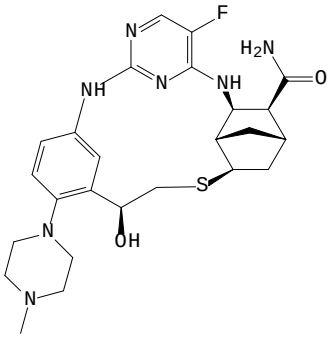
Ejemplo 61

Este compuesto se preparó como el procedimiento del ejemplo 60 utilizando 2-cloro-1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-5-nitro-fenil]-etanona. LC/MS [método A, tiempo de retención 1,7 min; m/z 512,2 (M+1)].

Ejemplos comparativos 62 y 63



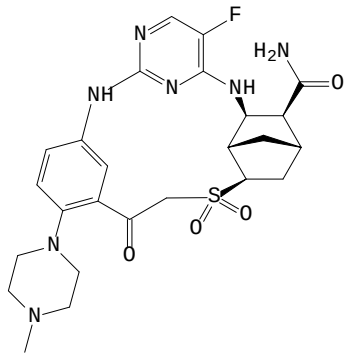
Ejemplo 62



Ejemplo 63

A una solución del macrociclo del ejemplo 61 (25 mg, 0,05 mmoles) en THF-EtOH (1:1, 2 ml) se agregó borohidruro de sodio (7,39 mg, 0,20 mmoles; 4,00 equivalentes) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a rt durante la noche. Se agregaron 9 mg de $NaBH_4$ y la mezcla se agitó durante otras 4 h. Se suspendió con agua y se neutralizó hasta pH 7. La mezcla se concentró y el residuo resultante se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el ejemplo 62 (6 mg) y el ejemplo 63 (6 mg). No se determinó la estereoquímica del grupo OH. Ejemplo 62: LC/MS [método A, tiempo de retención 4,3 min; m/z 514,1 (M+1)]. Ejemplo 53: LC/MS [método A, tiempo de retención 3,2 min; m/z 514,1 (M+1)].

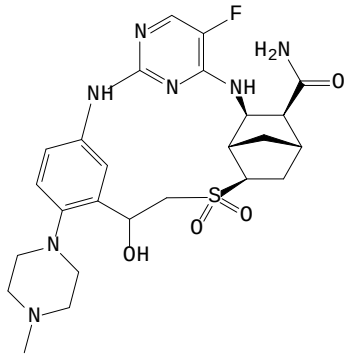
Ejemplo comparativo 64



Ejemplo 64

A una solución del compuesto del ejemplo 61 (20 mg, 0,04 mmoles) en DCM (2 ml) seca bajo nitrógeno se agregó MCPBA (11 mg, 70%, 0,04 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante 4 h. La reacción se suspendió con $NaSO_3$ acuoso. La mezcla se concentró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del ejemplo 64 (5 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 0,33 min; m/z 544,2 (M+1)].

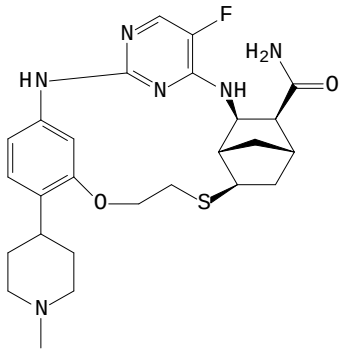
Ejemplo comparativo 65



Ejemplo 65

A una solución del compuesto del ejemplo 64 (4 mg, 0,01 mmoles) en EtOH-THF (1:1, 1 ml) se agregó $NaBH_4$ (1,1 mg, 0,03 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante 20 min. La reacción se suspendió con agua y se neutralizó a pH 7. La mezcla se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del ejemplo 65 (2 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 0,35 min; m/z 546,5 (M+1)].

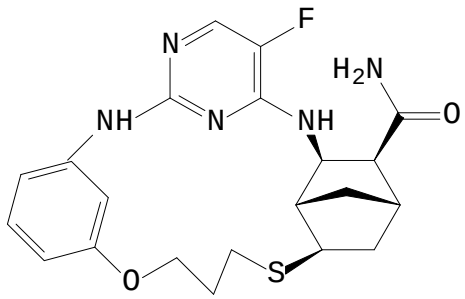
Ejemplo comparativo 66



Ejemplo 66

Utilizando 2-(1-metil-piperidin-4-il)-5-nitrofenol como material inicial, se preparó el compuesto del ejemplo 66 por un procedimiento similar a la preparación del ejemplo 22. LC/MS [método A, tiempo de retención 1,6 min; m/z 513,0 (M+1)].

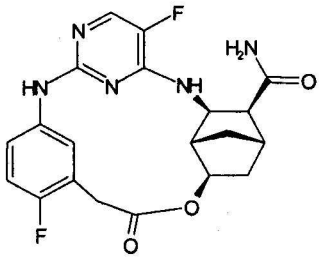
Ejemplo comparativo 67



Ejemplo 67

Este compuesto se preparó como se describió en la síntesis del ejemplo 21 anterior. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,6 min; m/z 430,1 (M+1)].

Ejemplo comparativo 68



Ejemplo 68

Un tubo Schlenk cargado con $[Rh(COD)Cl]_2$ (175 mg, 0,35 mmoles) y (S,S,)-DBPP (311 mg, 0,71 mmoles) se purga/descarga con N_2. Se agregó THF (58 ml) seguido por (1S,2S,3R,4R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-carboxamida (5,00 g, 17,69 mmoles; 1,00 equivalentes) en 2 ml de THF. La mezcla se enfrió a -78°C, se agitó durante 10 min y se agregó a la solución CatBH (1,3,2-benzodioxaborola, 3,77 ml, 35 mmoles). La mezcla se agitó a -78°C durante 30 min y después se agitó a rt durante 2 días. La mezcla se enfrió a 0°C, se agregaron 20 ml de etanol seguido por 20 ml de NaOH de 3M y 20 ml de H_2O_2 30%. La mezcla se agitó a rt durante 6 h. Después se diluyó con 170 ml de una solución de NaOH 1 M. La mezcla se extrajo con EtOAc 3 veces, se lavó con NaOH 1 M, H_2O y salmuera. Después de concentración de la capa orgánica y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en columna instantánea para proporcionar dos aductos (relación, 3:1): (1S,2S,3R,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-hidroxibiciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (612 mg, 12%) y (1R,2S,3R,4R,6S)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-6-hidroxibiciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (222 mg, 4%).

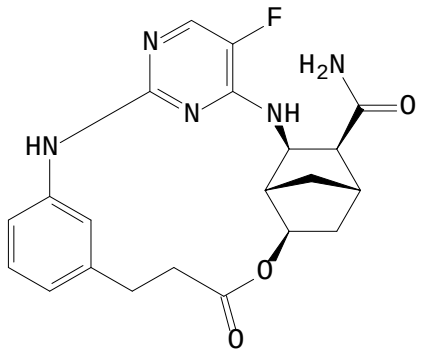
A una solución de amida del ácido (1S,2S,3R,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-ilamino)-5-hidroxi-biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxílico (50 mg, 0,17 mmoles) y ácido 2-(2-fluoro-5-nitrofenil)acético (33 mg, 0,17 mmoles) en piridina (1 ml) se agregó ácido ((1R,4S)-7,7-dimetil-2-oxobiciclo[2.2.1]heptan-1-il)metansulfónico (2,7 mg, 0,01 moles) y N,N'-metandiilidendiciclohexanamina (38 mg, 0,18 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante 3 días. Después se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar 2-(2-fluoro-5-nitrofenil)acetato de (1S,2R,4S,5S,6R)-5-carbamoil-6-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-ilo (12 mg).

La etapa de reducción de nitro se realizó en un kit H-Cube utilizando un cartucho Pt. La velocidad de flujo es de 1

ml/min a 35°C.

La macrociclización se realizó como sigue: a un matraz de fondo redondo de 50 ml se le carga con TFA y CAN seco. Se calentó a reflujo bajo nitrógeno. Se agregaron por gotas con una bomba de jeringa durante 1 hora (5-amino-2-fluorofenil)acetato de (1S,2R,4S,5S,6R)-5-(aminocarbonil)-6-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]hept-2-ilo (10,00 mg; 0,02 mmoles; 1,00 equivalente) en ACN (2 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. La mezcla se concentró y el producto crudo se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del ejemplo 68. LC/MS [método B, tiempo de retención 4,1 min; m/z 416,3 (M+1)].

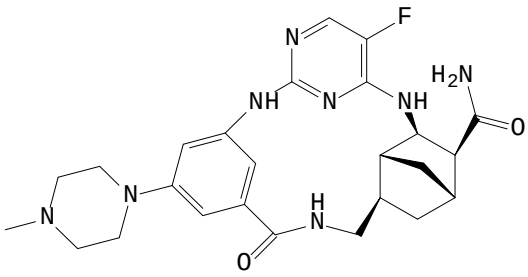
Ejemplo 69



Ejemplo 69

Se preparó el compuesto por un procedimiento similar al descrito para el ejemplo 68. LC/MS [método B, tiempo de retención 3,6 min; m/z 412,0 (M+1)].

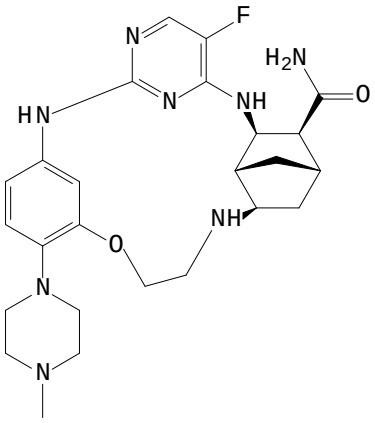
Ejemplo comparativo 70



Ejemplo 70

Este compuesto se preparó mediante un procedimiento similar al descrito para el ejemplo 58. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,3 min; m/z 495,2 (M+1)].

Ejemplo comparativo 71

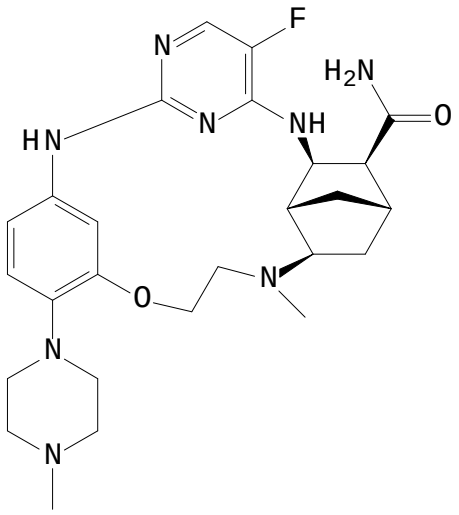


Ejemplo 71

A una solución de 4-metilbencensulfonato de 2-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenoxi]etilo (319,65 mg, 0,073 mmoles; 1,10 equivalentes) y la (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (200,00 mg; 0,67 mmoles; 1,00 equivalentes) en DFM se agregó dicarbonato dicesio (543,51 mg, 1,67 mmoles; 2,50 equivalentes). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía en gel de silice para proporcionar (1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenoxi)etilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (110 mg).

La reducción nitro y las etapas de macrociclización siguientes se realizaron como se describieron para el ejemplo 22 para proporcionar el compuesto del ejemplo 71. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,37 min; m/z 497,0 (M+1)].

Ejemplo comparativo 72

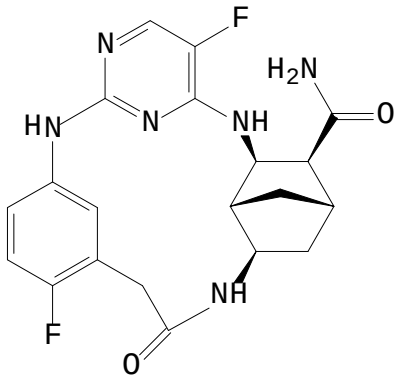


Ejemplo 72

A una solución de (1S,2S,3R,4R,5R)-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]-5-({2-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenoxi]etil}amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (100,00 mg, 0,18 mmoles; 1,00 equivalentes) en MeOH se agregó formaldehído 37% (13,22 µl; 0,18 mmoles; 1,00 equivalentes). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se co-rotoevaporó con tolueno 4 veces para eliminar el agua. La mezcla se resuspende en MeOH y se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (151 mg, 4 equivalentes). La mezcla se agitó durante 1 h a rt. Se concentró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar (1S,2S,3R,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(metil(2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitrofenoxi)etil)-amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (113 mg).

La reducción de nitro y la siguiente etapa de macrociclización se realizó como se describió para el ejemplo 22 para proporcionar un compuesto del ejemplo 72. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,38 min; m/z 511,0 (M+1)].

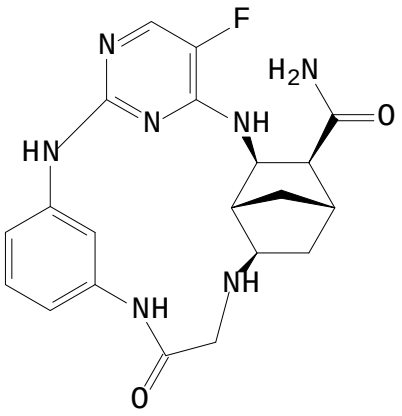
Ejemplo comparativo 73



Ejemplo 73

Este compuesto se preparó por un procedimiento similar al descrito para el ejemplo 58. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,64 min; m/z 415,4 (M+1)].

Ejemplo comparativo 74

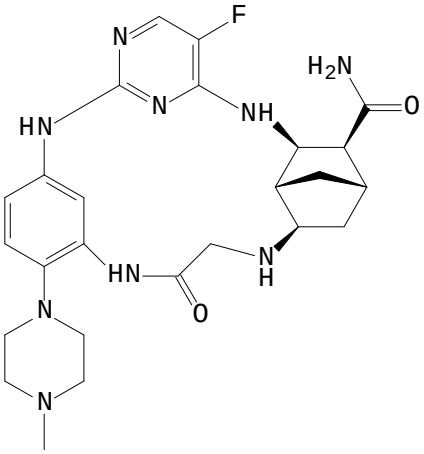


Ejemplo 74

A una solución de 2-cloro-N-(3-nitrofenil)acetamida (43 mg, 0,20 mmoles) y la (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (60 mg; 0,20 mmoles) en MeCN seco se agregó carbonato de dicesio (163 mg; 0,50 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice para proporcionar (1S,2S,3R,4R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-(3-nitrofenilamino)-2-oxoetilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida.

La reducción nitro y la siguiente etapa de macrociclización se realizaron como se describió por el ejemplo 71 para proporcionar el compuesto del ejemplo 74. LC/MS [método B, tiempo de retención 5,3 min; m/z 412,2 (M+1)].

Ejemplo comparativo 75

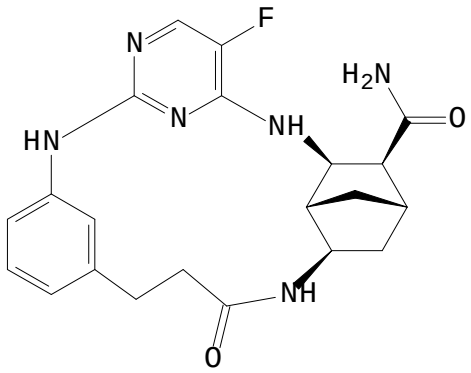


Ejemplo 75

Se disolvió cloruro de cloroacetilo (218,81 µl; 2,75 mmoles) en DCM seca y se enfrió a 0ºC. se agregó N,N-dietiletanamina (442,44 µl; 3,17 mmoles; 1,50 equivalentes) seguido por la adición de 2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-nitroanilina (500,00 mg; 2,12 mmoles; 1,00 equivalente). La mezcla se agitó a 0ºC durante 1 h y se permitió que se calentara hasta rt durante 1 h. La solución cambia de transparente a amarillo turbio. La LC/MS indica conversión completa. La mezcla se concentró y de secó para proporcionar la 2-cloro-N-(2-4-metilpiperazin-1-il)-nitrofenil)acetamida cruda. El aducto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Después de la N-alquilación, la reducción nitro y macrociclización se realizaron como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 75. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,39 min; m/z 510,4 (M + 1)].

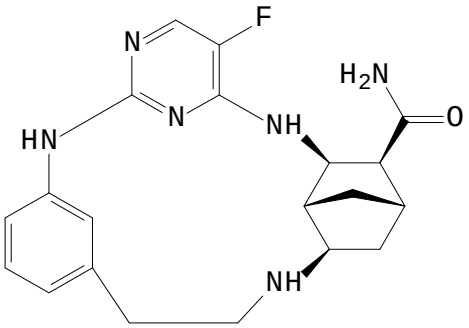
Ejemplo comparativo 76



Ejemplo 76

Este compuesto se preparó mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 58. LC/EM [método A, tiempo de retención 0,77 min; m/z 411,2 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 77

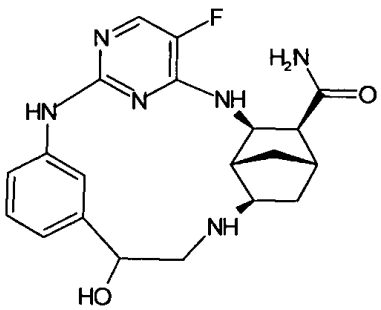


Ejemplo 77

En un tubo sellado se agregó carbonato de dicesio (543,51 mg; 1,67 mmoles; 2,50 equivalentes) a una solución de 4-metilbencensulfonato de 2-(3-nitrofenil)etilo (235,87 mg; 0,73 mmoles; 1,10 equivalentes) y (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (200,00 mg; 0,67 mmoles; 1,00 equivalente) en DMF. La mezcla se agitó a rt durante un fin de semana. La mezcla se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar el aducto puro, (1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(3-nitrofenetilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (50 mg).

La siguiente reducción nitro y macrociclización se realizó como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 77. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,42 min; m/z 308,0 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 78

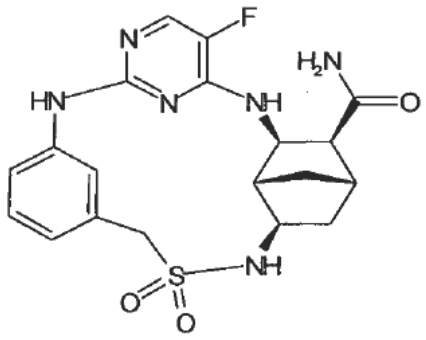


Ejemplo 78

En un matraz de fondo redondo se agregó carbonato de dicesio (543,51 mg; 1,67 mmoles; 2,50 equivalentes) a una solución con agitación de 2-(3-nitrofenil)oxirano (121,22 mg; 0,73 mmoles; 1,10 equivalentes) y (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (200,00 mg; 0,67 mmoles; 1,00 equivalente) en DMF. La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar el aducto puro, (1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(2-hidroxi-2-(3-nitrofenil)etilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (50 mg, 16%).

La siguiente reducción de nitro y macrociclización se realizaron como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 78. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,40 min; m/z 399,2 (M+1)].

Ejemplo comparativo 79

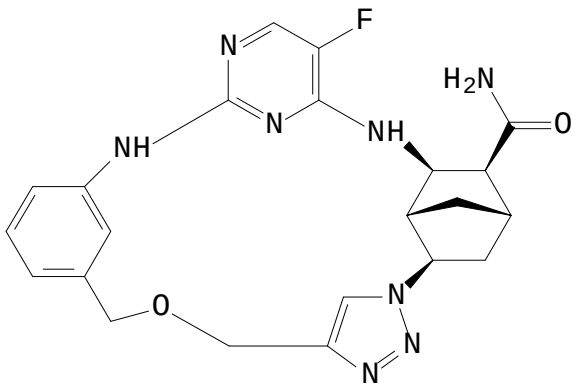


Ejemplo 79

Un vial de centelleo equipado con una barra de agitación se disolvió (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-[(2-cloro-5-fluoropirmidin-4-il)amino]biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (200,00 mg; 0,67 mmoles; 1,00 equivalentes) en THF (3,00 ml). A la solución se le agregó trietilamina (212,74 µl; 1,53 mmoles; 2,30 equivalentes) y 3-nitro-α-toluensulfonilo (188,68 mg; 0,80 mmoles; 1,20 equivalentes). El vial se selló y se permitió que se agitara a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar la (1S,2S,3R,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-((3-nitrofenil)metilsulfonamido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida.

La siguiente reducción de nitro y macrociclización se realizaron como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 79. LC/MS [método A, tiempo de retención 0,35 min; m/z 433,6 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 80



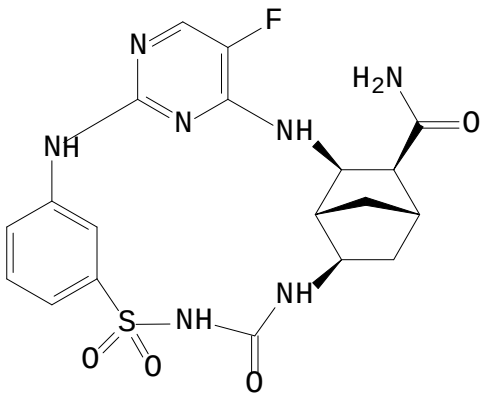
Ejemplo 80

A (3-nitrofenil)metanol (384,91 µl; 3,27 mmoles; 1,00 equivalentes) en THF bajo N_2 se agregó hidruro de sodio (261,18 mg; 6,53 mmoles; 2,00 equivalentes). Después de agitar durante 10 min se agregó 3-bromoprop-1-ino (727,36 µl; 6,53 mmoles; 2,00 equivalentes) en la mezcla. La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar 1-nitro-3-((prop-2-iniloxi)metil)benceno (782 mg, 80%).

A una solución de (1S,2S,3R,4S,5R)-5-azido-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (150 mg, 0,46 mmoles) y 1-nitro-3-((prop-2-iniloxi)metil)benceno (88 mg, 0,46 mmoles) en agua-EtOH-tBuOH (3:2:5, 2 ml) en EtOAc (1 ml) se agregó $CuSO_4$ (0,5 M, 0,1 ml) y polvo de cobre (3 mg). La mezcla se agitó a rt durante 10 días. La mezcla se concentró y el residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar (1S,2S,3R,4S,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(4-((3-nitrobenciloxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida.

La siguiente reducción nitro y macrociclización se realizaron como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 80. LC/MS [método A, tiempo de retención 4,2 min; 451,1 (M + 1)].

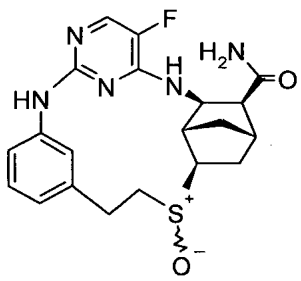
Ejemplo comparativo 81



Ejemplo 81

A una solución de la sal de TFA de (1S,2S,3R,4R,5R)-5-amino-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (226 mg, 0,55 mmoles) y 3-nitrofenilsulfonilcarbamato de etilo (164,8 mg, 0,60 mmoles) en dioxano (2 ml) se agregó trietilamina (0,11 ml, 0,82 mmoles). La mezcla se sometió a reflujo durante 5 horas. La mezcla se enfrió y se concentró. El residuo resultante se aplicó a cromatografía en gel de sílice para proporcionar (1S,2S,3R,4R,5R)-3-(2-cloro-5-fluoropirimidin-4-ilamino)-5-(3-(3-nitrofenilsulfonil)-ureido)biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxamida (150 mg, 52%). La siguiente reducción nitro y macrociclización se realizaron como se describió para el Ejemplo 74 para proporcionar el compuesto del Ejemplo 81. LC/MS [método A, tiempo de retención 3,1 min; m/z 462,1 (M + 1)].

Ejemplo comparativo 82



Ejemplo 82

A una solución del compuesto del producto final del Ejemplo 18 (50 mg, 0,12 mmoles) en DCM a -78ºC bajo nitrógeno se agregó MCPBA (70%, 299 mg, 1,2 mmoles). La mezcla se agitó a -78ºC durante 3 horas. La reacción se suspendió con una solución saturada de $NaHSO_3$ y la mezcla se concentró. El residuo resultante se aplicó a HPLC preparativa de fase reversa para proporcionar el aducto que se desea (3 mg). LC/MS [método A, tiempo de retención 3,33 min, m/z 416,1 (M + 1)].

Análisis enzimáticos bioquímicos para la actividad Aurora

Existen numerosos modelos para identificación de una guía de transducción de señales y detección de interacciones entre diversas vías de transducción de señales. Por ejemplo, existen los modelos de cultivo de célula de Khwaja et al., EMBO, (1997), 16: 2783-93 y modelos de animales transgénicos de White et al., Oncogene, (2001), 20: 7064-

7072. Para la identificación de ciertas etapas en la cascada de transducción de señal, se pueden utilizar compuestos que interactúen con el fin de modular la señal (véase, por ejemplo, Stephens et al., Biochemical J., (2000), 351:95-105). Los compuestos de acuerdo con la invención también se pueden utilizar como reactivos para evaluar vías de transducción de señales dependientes de quinasa en animales y/o modelos de cultivo celular o en las enfermedades clínicas mencionadas en la presente.

La medición de la actividad de quinasa es una técnica bien conocida por una persona experta en la técnica. Los sistemas de pruebas genéricos para la determinación de actividad de quinasa que utilizan sustratos (tal como por ejemplo, histona encontrada en Alessi et al., FEBS Lett. (1996), 399(3): 333-338) o la proteína de mielina básica se describen en la literatura (véase, por ejemplo, Campos-González, R. y Glenney, Jr., J.R., J. Biol. Chem. (1992), 267:14535).

Para la identificación de inhibidores de quinasas están disponibles diversos sistemas de análisis. En el análisis de proximidad de centelleo (Sorg et al., J. of. Biomolecular Screening, (2002), 7:11-19) y el análisis de placa instantánea, se mide la fosforilación radioactiva de una proteína o péptido como sustrato, con ATP. En presencia de un compuesto inhibidor, es detectable una señal radioactiva disminuida o ninguna señal. La transferencia de energía de resonancia fluorescencia resuelta en tiempo homogénea (HTR-FRET) y la tecnología de polarización de fluorescencia (FP) también son métodos de análisis adecuados (Sills et al., J. of Biomolecular Screening, (2002) 191-214), así como el uso de pruebas calibradas conocidas por los expertos en la técnica.

Otros métodos de análisis de ELISA no radioactivos utilizan fosfo-anticuerpos (fosfo-AB) específicos. Los fosfo-AB se unen únicamente al sustrato fosforilado. Esta unión después se puede detectar por quimioluminiscencia utilizando un segundo anticuerpo contra borrego, conjugado con peroxidasa (Ross et al., Biochem. J. (2002)).

Los análisis Aurora y otros análisis de quinasa descritos en la presente se realizan en dos sistemas Caliper Life Sciences, el LC3000 y el Desktop Profiler. Estos proporcionan datos respecto a la actividad enzimática vía medición de las cantidades relativas de péptido de sustrato marcado fluorescentemente fosforilado o no fosforilado al final de una reacción enzimática. Estos estados diferentes del péptido se separan aplicando una diferencia de potencial a través de la muestra. La presencia de un grupo fosfato cargado en el producto (en oposición al sustrato) provocan un desplazamiento peptídico diferente entre los dos péptidos. Esto se manifiesta por excitación de una marca fluorescente en los péptidos tanto de sustrato como de producto y se representan como picos dentro del programa de análisis.

Método LC3000

Por ejemplo, con el fin de medir la actividad inhibidora de inhibidores de Aurora A en un kit Caliper Life Sciences LC3000, se utilizó un instrumento de manejo de líquido TTP Mosquito para colocar 0,25 µl de una concentración apropiada de inhibidor en DMSO 100% (para el cálculo de una curva dosis-respuesta) en cada pozo de una placa de 384 pozos. A estos componentes de reacción se agregaron a un volumen final de 25 µl:

0,067 ng/µl de GST-Aurora A (Carna Biosciences 05-101. Fusión GST N-terminal con Aurora A de longitud completa (1-403 aminoácidos), número de acceso NP_940835,1).

ATP 15 µm (Fluka, 02055)

DTT 1 mM (Sigma, D0632)

$MgCl_2$ 1 mM (Sigma, M1028)

Péptido sustrato 1 µM (secuencia FITC-LRRASLG-($CONH_2$), sintetizado por Tufts Peptide Synthesis service.

HEPES 100 mM, pH 7,5 (Calbiochem, 391338)

Brij-35 0,015% (Sigma, B4184)

La reacción se incuba durante 90 min a 25ºC y después se detiene por la adición de 70 µl de amortiguador de detención (HEPES 100 mM, pH 7,5, Brij-35, 0,015%, EDTA 10 mM (Sigma, E7889)).

La placa se lee en un equipo Caliper LC 3000 en un formato de análisis de desplazamiento de movilidad Off-Chip utilizando los siguientes parámetros para un chip 12-sipper: presión de cribado -1,8 psi, voltaje corriente arriba -2700, voltaje corriente abajo -1000. Estas condiciones provocan que los péptidos de sustrato no fosforilado y el producto fosforilado se separan como picos separados lo que permite medición directa del porcentaje de conversión de sustrato a producto. El porcentaje de conversión se grafica contra la concentración de inhibidor para producir una

curva sigmoidea dosis-respuesta a partir de la cual se calcula la CI_{50} utilizando XLFit para Microsoft Excel.

Método de determinación de perfil de gabinete

El determinador de perfil de gabinete utiliza el mismo principio que LC 3000 para calcular el porcentaje de conversión de un sustrato a producto. Caliper Life Sciences proporciona placas de 384 pozos elaboradas previamente congeladas instantáneamente, patentadas que contienen quinasas seleccionadas. Cada columna en la placa de 384 pozos contiene una quinasa seleccionada particular. Una segunda placa, "placa sustrato" contiene una mezcla de sustrato peptídico marcado fluorescentemente y ATP. Estas se encuentran distribuidas en columnas de manera que la transferencia para la placa de sustrato a la placa de enzima proporciona la enzima correcta con la concentración correcta del sustrato/ATP.

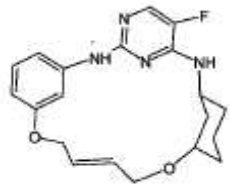
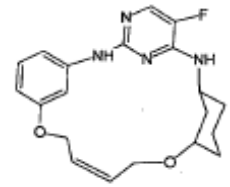
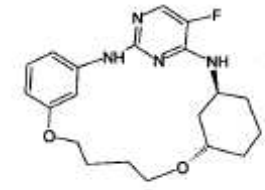
Los compuestos se agregaron a una placa de enzima recalentada en el formato deseado, en concentraciones únicas. Las reacciones se inician por transferencia de la mezcla de sustrato/ATP desde la placa del sustrato. La placa de enzima se incuba durante 90 min a 25ºC. La reacción se detiene por adición de 70 µl de amortiguador de detención (HEPES 100 mM pH 7,5, Brij-35 0,015%, EDTA 10 mM (Sigma, E7889)).

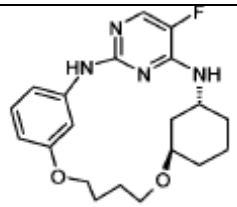
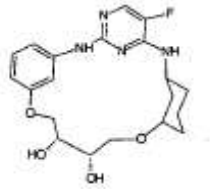
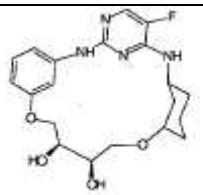
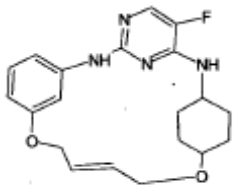
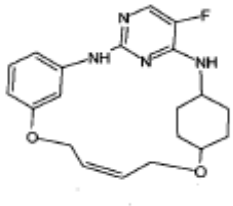
Las placas se leen de una manera idéntica a la de LC3000 y la relación entre los picos de sustrato de producto proporciona la actividad de enzima en ése pozo. Esto se representa mejor por un mapa de calentamiento de placa con colores, en donde cada pozo, el por ciento de inhibición se compara con controles positivo y negativo (sin inhibidores y sin ATP, respectivamente).

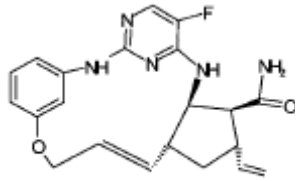
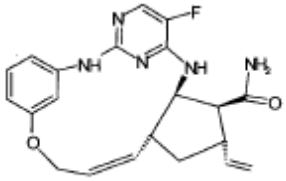
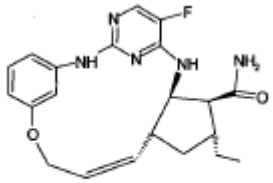
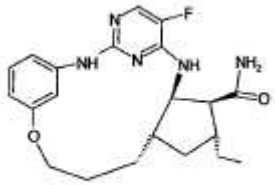
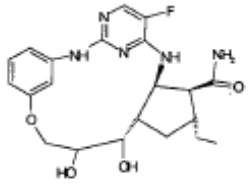
Los resultados de los compuestos probados en cualesquiera de estos dos sistemas se proporcionan en la Tabla 1 siguiente:

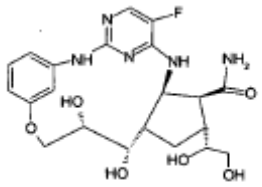
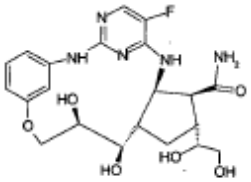
Tabla 1

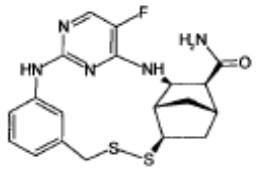
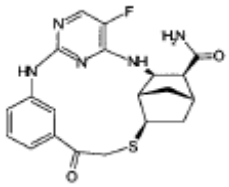
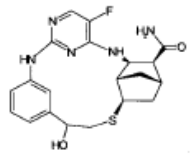
Inhibición de Aurora A quinasa y Aurora B quinasa por algunos macrociclos

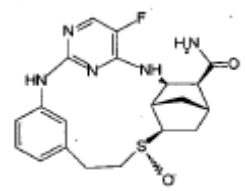
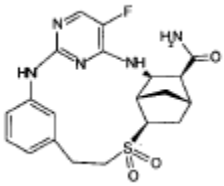
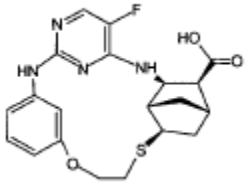
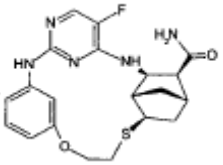
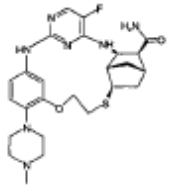
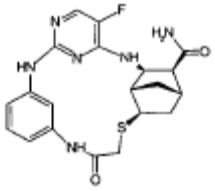
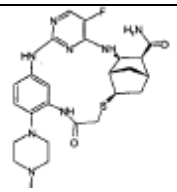
Estructura	Actividad enzimática	
	Aurora A IC_{50} (nM)	Aurora B IC_{50} (nM)
	++	++
	++	++
	+++	

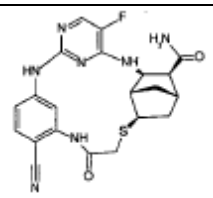
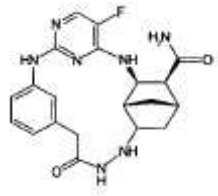
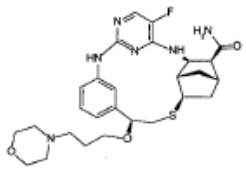
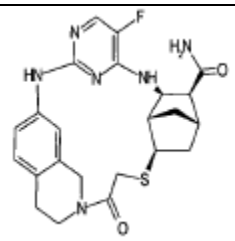
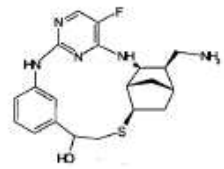
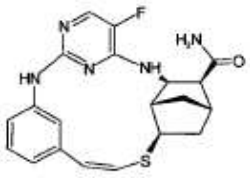
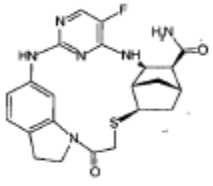
	++	
	++	
	++	
	++	
	++	+++

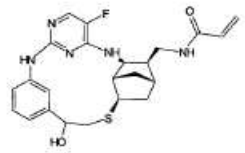
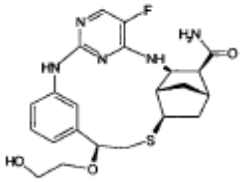
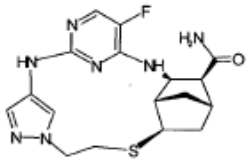
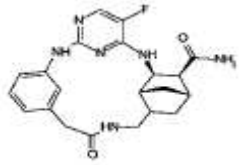
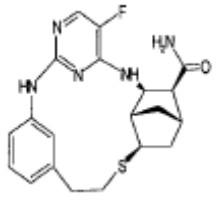
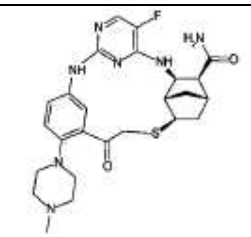
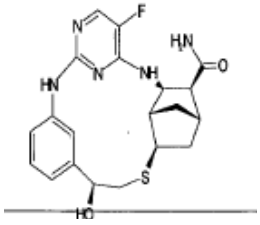
Estructura	Actividad enzimática		Perfil de inhibición de quinasa (no incluye Aurora)
	Aurora A IC_{50} (nM)	Aurora B IC_{50} (nM)	N° acierto de quinasas/N° quinasas evaluadas (donde "acierto" significa > 79% de inhibición) en unidades de concentración μM
	++	++	0/36 a 1 μM; 12/255 a 10 μM
	+	+	0/36 a 1 μM
		+	1/36 a 1 μM
	++	++	0/36 a 1 μM
	+++		

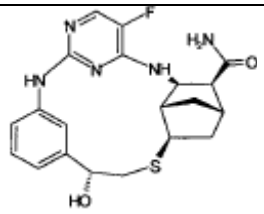
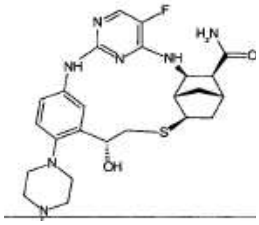
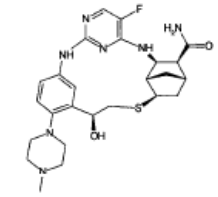
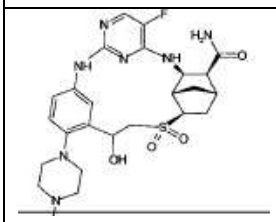
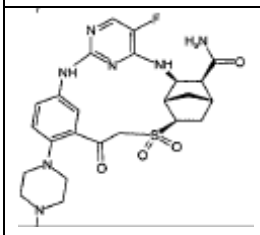
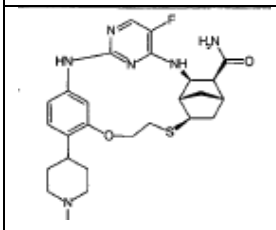
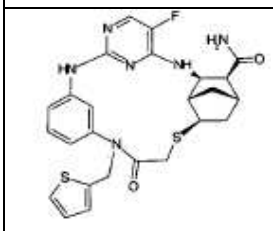
	+++		
	+++		

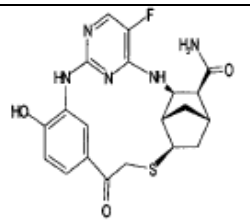
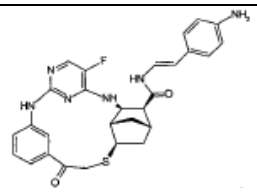
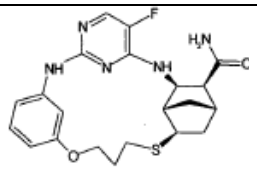
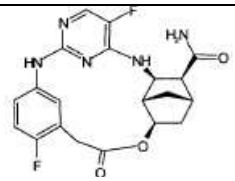
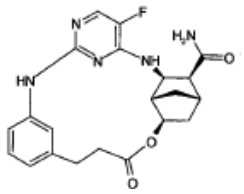
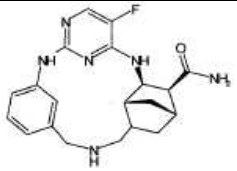
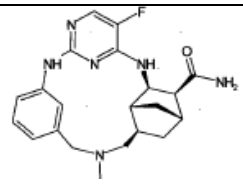
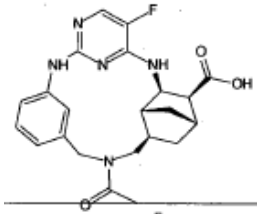
Estructura			Actividad enzimática		Perfil de inhibición de quinasa (no incluye Aurora)
	Aurora A IC_{50} (nM)	Aurora B IC_{50} (nM)	A549 IC_{50} (nM)	MiaPaca2 IC_{50} (nM)	N° acierto de quinasas/N° quinasas evaluadas (donde "acierto" significa > 79% de inhibición) en unidades de concentración µM
	+	+	+++	+++	14/36 a 1 µM; 18/74 a 1 µM
	+	+	+++	+++	2/36 a 1 µM
	+		++	++	

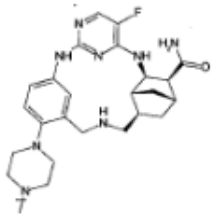
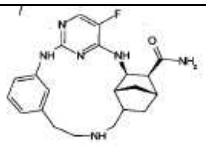
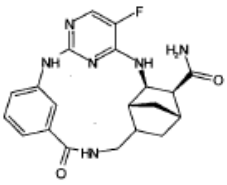
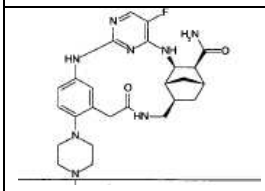
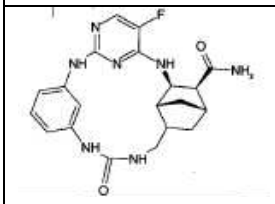
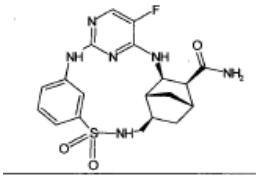
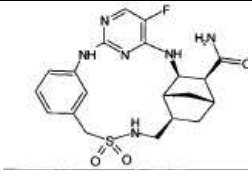
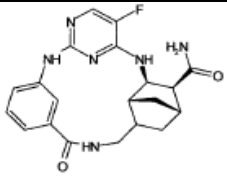
	+	+	+++	+++	
	+	+	+++	+++	
	+	+	++++	++++	8/36 a 10 µM
	+	+	+++	+++	11/36 a 1 µM
	+	+	++	++	12/51 a 1 µM
	+	+	++	++	12/36 a 1 µM
	+	+	++	++	13/36 a 1 µM

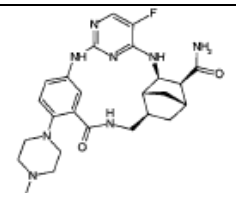
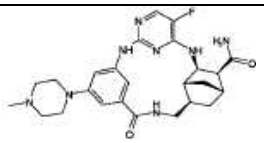
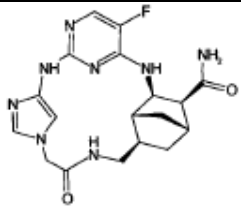
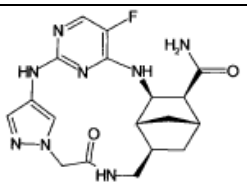
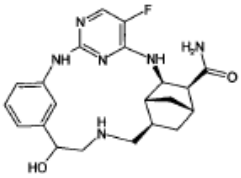
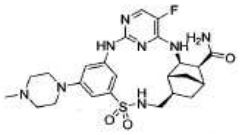
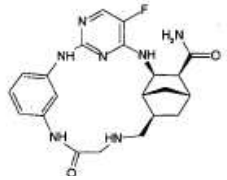
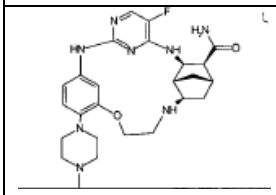
	+	++	++++	++++	12/38 a 1 µM
	+	+	++++	++++	
	++	++	+++	+++	
	+	+	+++	+++	
	+++		++++	++++	
	++				
	+	++	++++	++++	

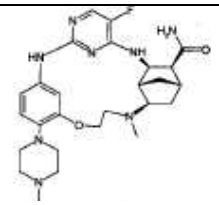
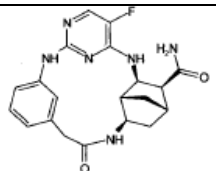
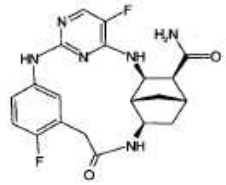
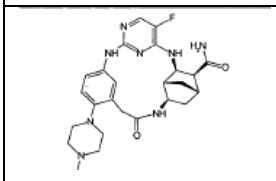
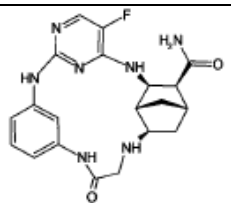
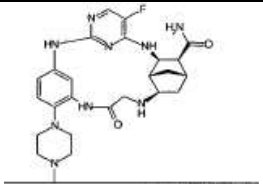
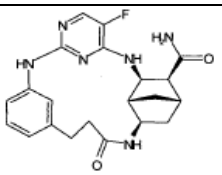
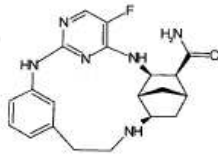
	++		++++	++++	
	+		+++	+++	
	+				
	+				
	+	+	+++	+++	8/36 a 1 µM, 9/74 a 1 µM
	+		+++	+++	
	+	+	++	++	0/76 a 1µM

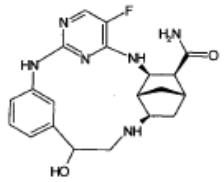
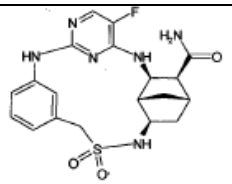
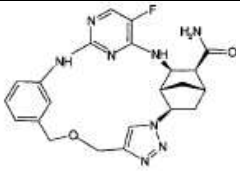
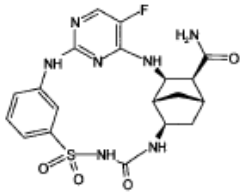
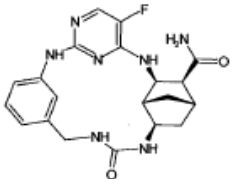
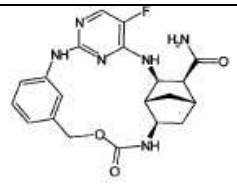
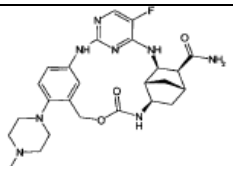
	+	+	++	++	
	+	+	+	+	121/267 a 1 µM
	+	+			121/267 a 1 µM
	+	+			
	+	+++			
	+	+	++	++	
	++	+++			

	+++	+++			
	++	++	++++	++++	
	+	+	+++	+++	
	+++	+++			
	++	++	+++	+++	
	++	+	+	+	1/50 a 1 µM
	+++	+			
	+++	++++			

	++	+			
	++	+	++	++	1/53 a 1µM
	+	+	+++	+++	1/76 a 1 µM
	++	+++	++++	+++	0/73 a 1 µM
	++	++	++++	+++	1/76 a 1µM
	+	+	+++	+++	
	+	++	+++	++++	
	+	+	+++	+++	1/76 a 1 µM

	++	++	++++	+++	0/73 a 1 µM
	+		+++	++	14/264 a 1 µM
	+++	+++			
	+	+	++++	+++	2/73 a 1 µM
	++				
	+				
	++	++			
	++	+	++	++	

	+	+			
	+	+			
	+	+	+++	+++	
	+	+			
	+++	++			
	+	+	+++	+++	
	++	++	+++	+++	
	+	+	+++	+++	

	++	+	+++	+++	
	++	++			
	+		+++	+++	
	++				
	+	+	+++	+++	
	+	+	+++	+++	
	+	+	++	++	

**Los rangos de IC_{50} se indican como:

+ = 1-100 en nM

++ = 101-1000 nM

+++ = 1001-6250 nM

++++ = >6250 nM

Tabla 2

Inhibición de otras quinasas por compuestos específicos de la divulgación

	Ejemplo comparativo 18	Ejemplo comparativo 20	Ejemplo comparativo 27
	IC_{50} (nM)	IC_{50} (nM)	IC_{50} (nM)
Abl(T315I)(h)			+
FAK(h)	++	++	
IRAK4(h)	+	++	+
Pyk2(h)	++	++	
Ret(h)	+++	++	+
Tie2(h)	+++	++	++

Tabla 3

Inhibición de otras quinasas por compuestos específicos de la divulgación a una concentración de 1 µM (los números indicados son % de inhibición)

	Ejemplo comparativo 33 Compuesto D @ 1 µM	Ejemplo comparativo 10 Compuesto E @ 1 µM		Ejemplo comparativo 22 Compuesto F @ 1 µM
AMPK	76	38	Abl(h)	-4
BRSK2	81	26	TrkA(h)	-1
BTK	37	2	Yes(h)	2
CAMKI	93	73	Flt3(D835Y)(h)	3
CAMKKb	81	73	Ret(h)	4
CDK2/Ciclina A	60	94	Aurora-A(h)	5
CHK1	98	73	FGFRI(h)	5
CHK2	77	12	Flt4(h)	11
CKI -delta	85	92	Lyn(h)	12
CK2	96	91	Abl(T315I)(h)	13
CSK	86	56	TrkB(h)	14

DYRK1-alfa	86	83	cSRC(h)	16
DYRK3	99	78	EphB2(h)	16
EF2K	78	62	Rskl(h)	23
EphA2	81	25	Flt3(h)	24
EphB3	54	4	SIK(h)	25
FGFR1	74	10	Pyk2(h)	27
GSK3-beta	57	19	Hck(h)	28
HIPK2	68	23	FAK(h)	30
IGF1-R	82	2	Axl(h)	40
IKK-beta	78	82	KDR(h)	41
IKK-épsilon	91	75	Met(h)	46
IR	67	37	Tie2(h)	46
IRR	69	72	EGFR(h)	48
JNK1-alfa-1	75	14	IRAK4(h)	52
LCK	54	14	Tie2(R849W)(h)	57
MAPK1	91	78	ALK(h)	59
MAPK2	79	90	MSK2(h)	60
MAPK8	61	9	CHK2(h)	64
MAPKAP-K1-alfa	56	12	AMPK(r)	65
MAPKAP-K1-beta	68	19	Fms(h)	82
MAPKAP-K2	100	88	CaMKIV(h)	83
MARK3	73	74	p70S6K(h)	83
MELK	101	36	FGFR4(h)	87
MKK1	71	13	PDGFRa(h)	87
MNK-1	95	98	Plkl(h)	87
MNK-2-alfa	81	82	ROCK-II(h)	92
MSK1	96	77	ZIPK(h)	95
MST2	61	8	CDK2/ciclinA(h)	96
MST4	89	59	DDR2(h)	96

Nek2a	82	66	NEK2(h)	96
NEK6	No evaluada	93	PKCa(h)	100
PAK4	81	38	CHKl(h)	101
PAK5	92	72	Plk3(h)	104
PAK6	90	81	c-RAF(h)	107
PBK	89	99	ROCK-I(h)	109
PDK1	91	73	JAK2(h)	111
Pim-1	65	61	cKit(D816Y)(h)	112
PIM-2	85	70	PDGFRß(h)	112
Pim-3	84	63	PDKl(h)	112
PKA	82	72	CDK2/ciclina(h)	133
PKB-alfa	85	93		
PKB-beta	85	101		
PKC-alfa	57	56		
PKC-zeta	104	99		
PKD2	78	73		
PLK1	63	4		
PLK1	92	12		
PRAK	80	84		
PRK2	97	43		
ROCK-II	79	75		
S6K1	74	94		
SAPK2-alfa	76	89		
SAPK2-beta	83	81		
SAPK3	87	72		
SAPK4	79	44		
SGK	87	82		
smMLCK	92	39		
SRC	58	14		

SRPK1	83	65
Syk	84	52
TBK1	97	100
VEGFR	49	15
YES1	49	9

Tabla 3a

	Ejemplo comparativo 10 @ 1 µM Compuesto G	Ejemplo comparativo 11 @ 1 µM Compuesto H	Ejemplo comparativo 20 @ 1 µM Compuesto I	Ejemplo comparativo 27 @ 1 µM Compuesto J	Ejemplo comparativo 24 @ 1 µM Compuesto K
Abl(h)	101	92	79	3	-4
Abl(T315I)(h)	47	95	34	1	0
ALK(h)	8	81	60	77	32
AMPK(r)	86	97	81	71	68
Aurora-A(h)	1	95	4	1	2
Axl(h)	10	105	40	63	48
CaMKIV(h)	66	119	103	111	100
CDK2/ciclina(h)	23	92	69	60	100
cKit(D816V)(h)	96	102	112	95	97
EGFR(h)	53	113	67	34	-2
EphB2(h)	5	115	27	67	17
FAK(h)	3	77	11	41	30
FGFR4(h)	128	100	102	96	50
Flt3(D835Y)(h)	7	110	8	12	3
Flt3(h)	65	102	16	66	21
Hck(h)	13	92	23	13	6
IRAK4(h)	3	90	12	12	19
JAK2(h)	95	121	46	62	60
KDR(h)	32	101	8	7	8
Lyn(m)	8	99	27	13	2

Met(h)	41	125	60	69	63
MSK2(h)	3	89	48	65	81
NEK2(h)	49	98	103	113	101
PDGFRß(h)	149	93	110	115	95
PDKl(h)	96	98	80	86	108
PKCa(h)	90	94	107	102	103
Pyk2(h)	13	93	15	34	31
Ret(h)	7	56	11	4	1
ROCK-I(h)	96	-2	96	104	93
ROCK-II(h)	90	102	99	110	120
Rskl(h)	13	79	24	38	30
Tie2(h)	101	91	8	2	8
Tie2(R849W)(h)	41	103	14	[17]	28
TrkA(h)	0	8	1	1	5
TrkB(h)	1	32	5	5	1
ZAP-70(h)	118	124	122	125	112
ZIPK(h)	118	84	93	97	109

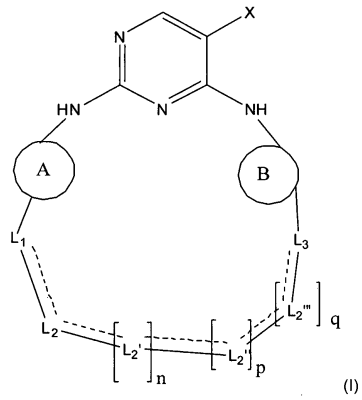
Tabla 3b

	Ejemplo comparativo 26 @ 1 µM Compuesto L	Ejemplo comparativo 21 @ 10 µM Compuesto M	Ejemplo comparativo 6 @ 1 µM Compuesto N	Ejemplo comparativo 5 @ 1 µM Compuesto O	Ejemplo comparativo 3 @ 1 µM Compuesto P
Abl(h)	-1	44	99	105	105
Abl(T315I)(h)	2	38	89	103	92
ALK(h)	88	57	101	97	86
AMPK(r)	79	57	51	58	92
Aurora-A(h)	0	2	3	7	11
Axl(h)	55	66	78	96	107
CaMKIV(h)	11	76	99	97	140

CDK2/ciclina(h)	15	89	107	109	114
cKit(D816V)(h)	112	104	96	103	77
EGFR(h)	57	49	67	63	120
EphB2(h)	112	8	80	94	94
FAK(h)	35	7	81	91	86
FGFR4(h)	53	81	96	94	122
Flt3(D835Y)(h)	57	2	33	63	77
Flt3(h)	93	2	116	117	98
Hck(h)	10	39	110	123	101
IRAK4(h)	43	31	52	81	82
JAK2(h)	16	48	108	94	89
KDR(h)	8	10	62	70	95
Lyn(m)	111	36	93	108	104
Met(h)	9	30	122	114	115
MSK2(h)	2	75	60	56	136
NEK2(h)	79	92	107	110	95
PDGFRp(h)	58	104	107	117	110
PDKl(h)	88	78	90	92	102
PKCa(h)	81	91	90	84	70
Pyk2(h)	99	11	110	122	94
Ret(h)	50	35	12	52	78
ROCK-I(h)	2	98	99	106	101
ROCK-II(h)	94	94	97	105	80
Rskl(h)	41	31	53	71	78
Tie2(h)	44	33	119	104	99
Tie2(R849W)(h)	26	35	91	92	93
TrkA(h)	1	15	50	60	58
TrkB(h)	3	18	90	85	83
ZAP-70(h)	112	94	125	122	109
ZIPK(h)	106	86	112	110	118

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I



(I)

en donde:

X es H; halógeno; CF_3; CN, NO_2, N(RR'); C(O)N(RR'); C(O)OR; C(O)H; $S(O)_2$; S(OH); S(O); o S(O)NRR'

es arilo o un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

es un mono-, bi- o tricarbociclo saturado o insaturado, con puente o sin puente, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente;

-------- representa la presencia o ausencia de un enlace doble;

L_1 y L_3 son, cada uno, O;

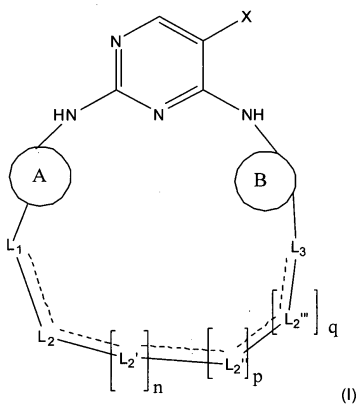
L_2, $L_{2'}$, $L_{2''}$ y $L_{2'''}$ es, cada uno de manera independiente, CH_2 o CH;

R y R' es, cada uno de manera independiente, H;

n, p y q es, cada uno de manera independiente, 0 ó 1; o

una sal, hidrato, solvato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de la Fórmula I



(I)

en donde

X es F;

es arilo,

es ciclopentano, sustituido por carboxamida y dihidroxietilo;

L_1 es O;

L_2 es CH_2

$L_{2'}$, y L_3 es, cada uno de manera independiente, CHOH;

n es 1

p y q es, cada uno de manera independiente, 0; o

una sal, hidrato, solvato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es F y es biciclo [2.2.1]heptan-2-carboxamida.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es F y es fenilo, que está sustituido o no sustituido por CN, OH, F o 4-metil-piperazina.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, y un vehículo, diluyente o excipiente fisiológicamente aceptable.

6. Un compuesto de la reivindicación 1 ó 2, para usar como un medicamento.

7. Un compuesto de la reivindicación 1 ó 2, para usar en el tratamiento de una enfermedad proliferativa, autoinmune, inflamatoria o infecciosa.

8. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 7 en donde la enfermedad es un cáncer.

9. Un kit que comprende paquetes separados, donde el primero contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, y el segundo contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un ingrediente farmacéuticamente activo adicional.

10. Un compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona del grupo que consiste en:

(16Z)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno;

(16E)-4-fluoro-14,19-dioxa-2,6,8,26-tetraazatetraciclo[18.2.2.1~3,7~.1~9,13~]hexacosa-3(26),4,6,9(25),10,12,16-heptaeno;

o una sal, hidrato, solvato, tautómero, enantiómero o mezcla racémica farmacéuticamente aceptable del mismo.