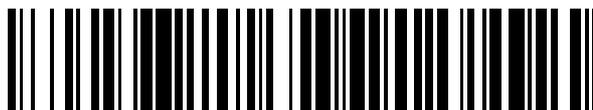


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 601**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/10 (2006.01)
C07D 213/82 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.05.2013 PCT/IB2013/053768**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013 WO13171639**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2013 E 13730652 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2861579**

54 Título: **Derivados de benzamida para la inhibición de la actividad de ABL1, ABL2 y BCR-ABL1**

30 Prioridad:

15.05.2012 US 201261647174 P
15.03.2013 US 201361790967 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.05.2018

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

DODD, STEPHANIE KAY;
FURET, PASCAL;
GROTZFELD, ROBERT MARTIN;
JONES, DARRYL BRYNLEY;
MANLEY, PAUL;
MARZINZIK, ANDREAS;
PELLE, XAVIER FRANCOIS ANDRE;
SALEM, BAHAA;
SCHOEPFER, JOSEPH y
JAHNKE, WOLFGANG

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 670 601 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de benzamida para la inhibición de la actividad de ABL1, ABL2 y BCR-ABL1

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos capaces de inhibir la actividad enzimática de cinasa de tirosina de la proteína de Abelson (ABL1), la proteína relacionada con Abelson (ABL2), y las proteínas quiméricas relacionadas, en particular BCR-ABL1. La invención proporciona además un proceso para la preparación de los compuestos de la invención, las preparaciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, y los métodos para utilizar tales compuestos en el tratamiento de cánceres.

Antecedentes de la invención

10 La actividad de cinasa de tirosina de la proteína ABL1 normalmente es estrechamente regulada, teniendo la región de tapa N-terminal del dominio SH3 una función importante. Un mecanismo regulador involucra el residuo de glicina-2 de tapa N-terminal que está miristoilado, y que entonces interactúa con un sitio de enlace de miristato dentro del dominio catalítico SH1. Una indicación de leucemia mieloide crónica (CML) es el cromosoma Filadelfia (Ph), formado mediante la translocalización cromosómica recíproca t(9,22) en una célula madre hematopoiética. Este cromosoma
15 lleva el oncogén BCR-ABL1 que codifica la proteína BCR-ABL1 quimérica, que carece de la tapa N-terminal y tiene un dominio de cinasa de tirosina constitutivamente activo.

Aunque los fármacos que inhiben la actividad de cinasa de tirosina de BCR-ABL1 por medio de un mecanismo competitivo con ATP, tales como Gleevec® / Glivec® (imatinib), Tassigna® (nilotinib), y Sprycel® (dasatinib), son efectivos en el tratamiento de leucemia mieloide crónica (CML), algunos pacientes tienen recurrencia debido al surgimiento de clones resistentes a los fármacos, en donde las mutaciones en el dominio SH1 comprometen el enlace del inhibidor. Aunque Tassigna® y Sprycel® mantienen la eficacia hacia muchas formas mutantes de BCR-ABL1 resistentes al Gleevec, la mutación en donde el residuo de treonina-315 es reemplazado por una isoleucina (T315I) sigue siendo insensible a los tres fármacos, y puede dar como resultado que los pacientes con leucemia mieloide crónica (CML) desarrollen resistencia a la terapia. Por consiguiente, la inhibición de las mutaciones de BCR-ABL1, tales como T315I, sigue siendo una necesidad médica insatisfecha. En adición a la leucemia mieloide crónica (CML), las proteínas de fusión de BCR-ABL1 son causantes de un porcentaje de leucemias linfocíticas agudas, y los fármacos dirigidos a la actividad de cinasa de ABL también tienen utilidad en esta indicación.

Los agentes dirigidos al sitio de enlace de miristoílo (denominados como inhibidores aloestéricos) tienen potencial para el tratamiento de los trastornos de BCR-ABL1 (J. Zhang, F. J. Adrian, W. Jahnke, S. W. Cowan-Jacob, A. G. Li, R. E. Jacob, T. Sim, J. Powers, C. Dierks, F. Sun, G.-R. Guo, Q. Ding, B. Okram, Y. Choi, A. Wojciechowski, X. Deng, G. Liu, G. Fendrich, A. Strauss, N. Vajpai, S. Grzesiek, T. Tuntland, Y. Liu, B. Bursulaya, M. Azam, P. W. Manley, J. R. Engen, G. Q. Daley, M. Warmuth., N. S. Gray. Targeting BCR-ABL by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature 2010; 463: 501-6). Para prevenir el surgimiento de resistencia al fármaco a partir del uso del inhibidor de ATP y/o del inhibidor aloestérico, se puede desarrollar un tratamiento de combinación utilizando ambos tipos de inhibidor para el tratamiento de los trastornos relacionados con BCR-ABL1. En particular, existe una necesidad de moléculas pequeñas, o de combinaciones de las mismas, que inhiban la actividad de BCR-ABL1 y de las mutaciones de BCR-ABL1 por medio del sitio de enlace de ATP, el sitio de enlace de miristoílo, o de una combinación de ambos sitios.

Además, los inhibidores de la actividad de cinasa de ABL1 tienen el potencial para utilizarse como terapias para el tratamiento de carcinomas invasivos metastásicos e infecciones virales, tales como los virus pox y Ébola.

Los compuestos de la presente invención también tienen el potencial para tratar o prevenir las enfermedades o los trastornos asociados con la actividad de cinasa anormalmente activada de ABL1 de tipo silvestre, incluyendo las enfermedades o los trastornos no malignos, tales como las enfermedades del sistema nervioso central (CNS), en particular las enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, las enfermedades de Alzheimer, de Parkinson), las enfermedades de las motoneuronas (esclerosis lateral amiotrófica), distrofias musculares, enfermedades autoinmunes e inflamatorias (diabetes y fibrosis pulmonar), infecciones virales, enfermedades de priones.

El documento WO 2004/005281 A1 divulga pirimidinilaminobenzamidas sustituidas como inhibidores de cinasas de tirosina.

50 Eck M J et al Current Opinion in Cell Biology, vol. 21, no. 2, 1 de abril de 2009, páginas 288-295 informa sobre los inhibidores de BCR-Abl, Imatinib, Nilotinib y Dasatinib.

Breve descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona los compuestos de la fórmula (I): en donde:

R₁ es pirazolilo; en donde este pirazolilo está insustituido o sustituido con 1 a 2 grupos R₆;

R₂ es pirrolidinilo; en donde este pirrolidinilo está sustituido con un grupo R₇;

R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno;

5 R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃;

R₆ en cada presentación se selecciona independientemente a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxí-metilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo;

10 R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroxí-metilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo;

Y se selecciona a partir de CH y N;

Y₁ se selecciona a partir de CH y N;

Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂; y

Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, cloro, flúor, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo.

15 En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, la cual contiene un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con uno o más excipientes adecuados.

Los compuestos de fórmula I se usan en terapia en un animal en el que la actividad de BCR-ABL1 contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

20 Se divulga un proceso para preparar compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

25 Figura 1: Patrón de difracción en polvo de rayos-X (utilizando una fuente de cobre (lambda = 1.54A) para la medición) para una formulación de dispersión sólida amorfa del Ejemplo 9 (véase el Ejemplo 41) que tiene una carga del 25 por ciento del Ejemplo 9 con PVP VA64 (37.5 por ciento) y Pharmacoat 603 (37.5 por ciento).

Figura 2: Los animales con xenoinjertos de KCL-22 subcutáneos recibieron un tratamiento diario con el Ejemplo 9. Se demostró la actividad anti-tumoral dependiente de la dosis.

30 Figura 3: Se cultivaron células KCL-22 como xenoinjertos subcutáneos, y cuatro animales se dosificaron con 75 miligramos/ kilogramo de Nilotinib BID (dos veces al día). Cuando los tumores desarrollaron resistencia al tratamiento con Nilotinib, se cambió la dosificación a 30 miligramos/kilogramo del Ejemplo 9 BID (dos veces al día). El tratamiento de los tumores resistentes al nilotinib con el Ejemplo 9 condujo a la regresión de los tumores. Cada línea representa un animal separado.

35 Figura 4: Los animales con xenoinjertos de KCL-22 subcutáneos se dosificaron con una combinación de 30 miligramos/ kilogramo del Ejemplo 9 BID (dos veces al día), y 75 miligramos/ kilogramo de Nilotinib BID (dos veces al día). Cada línea representa un animal separado. Se vio la regresión completa del tumor en todos los animales, y se mantuvo hasta el final del estudio.

Definiciones

40 Los términos generales utilizados anteriormente en la presente y más adelante en la presente, de preferencia tienen, dentro del contexto de esta divulgación, los siguientes significados, a menos que se indique de otra manera, en donde los términos más generales dondequiera que se utilicen, independientemente unos de otros, pueden ser reemplazados por definiciones más específicas o pueden quedarse, definiendo de esta manera las realizaciones más detalladas de la invención:

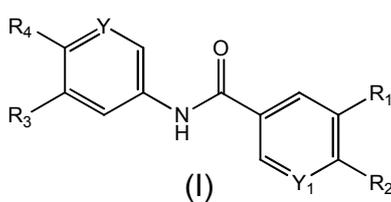
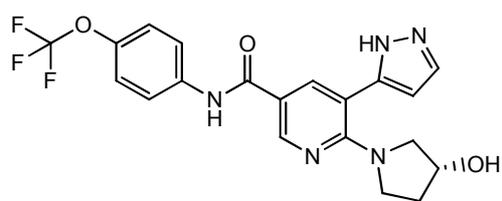
5 “Alquilo” se refiere a las fracciones de hidrocarburo ramificadas o no ramificadas que tienen de 1 a 7 átomos de carbono (alquilo C₁₋₇), o de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo C₁₋₄). Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo normal, isopropilo, butilo normal, butilo secundario, isobutilo, butilo terciario, pentilo normal, isopentilo, neopentilo, hexilo normal, 3-metil-hexilo, 2,2-dimetil-pentilo, 2,3-dimetil-pentilo, heptilo normal, octilo normal, nonilo normal, decilo normal, y similares. Un alquilo sustituido es un grupo alquilo que contiene uno o más, tal como uno, dos o tres sustituyentes seleccionados a partir de los grupos halógeno, hidroxilo, o alcoxilo. Alquilo sustituido por halógeno y alcoxilo sustituido por halógeno, puede ser ya sea de cadena recta o ramificada, e incluye metoxilo, etoxilo, difluoro-metilo, trifluoro-metilo, pentafluoro-etilo, difluoro-metoxilo, trifluoro-metoxilo, y similares.

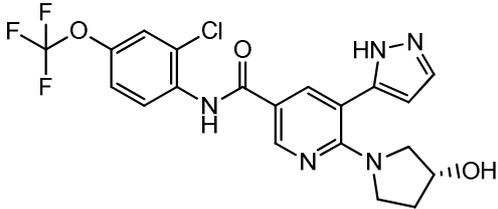
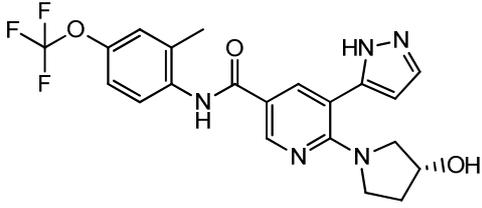
10 “Arilo” significa un ensamble de anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene de seis a diez átomos de carbono en el anillo. Por ejemplo, arilo puede ser fenilo o naftilo, de preferencia fenilo. “Arieno” significa un radical divalente derivado a partir de un grupo arilo.

15 “BCR-ABL1” se refiere a una proteína de fusión creada a partir de los exones N-terminales del gen de la región del racimo del punto de rompimiento (BCR), y la parte C-terminal mayor (exones 2 a 11) del gen de Abelson (ABL1). Las transcripciones de fusión más comunes codifican para una proteína de 210-kDa (p210 BCR-ABL1), aunque algunas transcripciones más raras codifican una proteína de 190-kDa (p190 BCR-ABL1), y una proteína de 230-kDa (p230 BCR-ABL1). Las secuencias de ABL1 de estas proteínas contienen un dominio de cinasa de tirosina ABL1 que está estrechamente regulado en la proteína de tipo silvestre, pero que es constitutivamente activado en las proteínas de fusión de BCR-ABL1. Esta cinasa de tirosina mal regulada interactúa con múltiples sendas de señalización celular, conduciendo a la transformación y proliferación mal regulada de las células.

20 “Mutantes de BCR-ABL1” se refiere a las numerosas mutaciones de un solo sitio en BCR-ABL1, incluyendo: Glu255→Lisina, Glu255→Valina, Thr315→Isoleucina, Met244→Val, Phe317→Leu, Leu248→Val, Met343→Thr, Gly250→Ala, Met351→ Thr, Gly250→Glu, Glu355→Gly, Gln252→His, Phe358→Ala, Gln252→Arg, Phe359→Val, Tyr253→His, Val379→Ile, Tyr253→Phe, Phe382→Leu, Glu255→Lys, Leu387→Met, Glu255→Val, His396→ Pro, Phe311→Ile, His396→Arg, Phe311→Leu, Ser417→Tyr, Thr315→Ile, Glu459→Lys y Phe486→Ser.

Los compuestos de la invención son sensibles a la sustitución sobre el anillo sustituido con R3 / R4 en la posición que es orto para el punto de unión del grupo NHC(O). Compare, por ejemplo, los siguientes compuestos de la fórmula (I). La IC₅₀ del Ejemplo 2 es de 1 nM comparándose con una sustitución de cloro o metilo con una IC₅₀ de 1.6 y 1.8 μM, respectivamente:

 <p>(I)</p> <p>Compuestos de la fórmula (I)</p>	<p>Caliper ABL1 (64-515) IC₅₀ [μM]</p>
 <p>Ejemplo 2</p>	<p>0.001</p>

	1.6
	1.8

"Halógeno" (o halo) de preferencia representa cloro o flúor, pero también puede ser bromo o yodo.

GLEEVEC® (mesilato de imatinib) se indica para el tratamiento de los pacientes con tumores estromales gastrointestinales (GIST) malignos no reseccionables y/o metastásicos positivos para KIT (CD117). También se indica para tratar a pacientes adultos en seguida de la resección general completa del tumor estromal gastrointestinal (GIST) positivo para KIT (CD117). También se indica para el tratamiento de los pacientes adultos y pediátricos recién diagnosticados con leucemia mieloide crónica positiva para el cromosoma Filadelfia (Ph+ CML) en la fase crónica y de los pacientes con Ph+ CML en crisis blástica (BC), en la fase acelerada (AP), o en la fase crónica (CP) después del fracaso de la terapia con interferón-alfa. También se puede utilizar como un medicamento dirigido para el tratamiento de los siguientes trastornos raros con opciones de tratamiento limitadas: leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia recurrente o refractaria (Ph+ ALL); enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas (MDS/MPD) asociadas con las reconfiguraciones genéticas del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR); mastocitosis sistémica agresiva (ASM) sin la mutación de c-Kit D816V o con un estado mutacional desconocido de c-Kit; síndrome hipereosinofílico/leucemia eosinofílica crónica (HES/CEL) con la cinasa de fusión FIP1L1-PDGFR α (análisis mutacional o demostración con FISH de la supresión del alelo CHIC2), y para los pacientes con HES y/o CEL que sean negativos para la cinasa de fusión FIP1L1-PDGFR α o desconocidos; y dermatofibrosarcoma protuberante (DFSP) no reseccionable, recurrente, y/o metastásico.

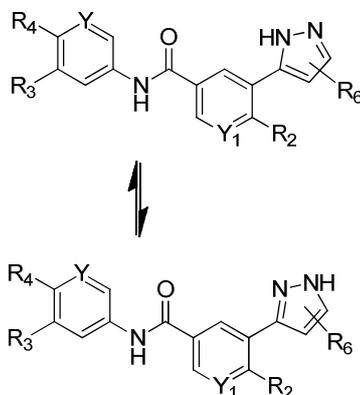
TASIGNA® (nilotinib) se indica para el tratamiento de los pacientes adultos con leucemia mieloide crónica positiva para el cromosoma Filadelfia (Ph+ CML) recién diagnosticada en la fase crónica, y se puede utilizar para tratar adultos que ya no se benefician de, o que sean intolerantes a, otros tratamientos, incluyendo imatinib (GLEEVEC®), o que hayan tomado otros tratamientos, incluyendo imatinib (GLEEVEC) pero que no puedan tolerarlos.

SPRYCEL® (dasatinib) es un medicamento de prescripción utilizado para tratar a adultos que tengan leucemia mieloide crónica (CML) positiva para el cromosoma Filadelfia (Ph+) recién diagnosticada en la fase crónica, y para tratar a adultos que ya no se estén beneficiando de, o que sean intolerantes a, otros tratamientos, así como para los pacientes con ALL.

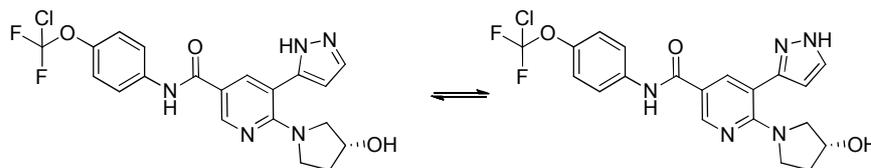
BOSULIF® (Bosutinib) es un medicamento de prescripción utilizado para tratar a adultos que tengan leucemia mieloide crónica (CML) positiva para el cromosoma Filadelfia (Ph+) recién diagnosticada en la fase crónica, y para tratar a adultos que ya no se estén beneficiando de, o que sean intolerantes a, otros tratamientos, así como para los pacientes con ALL.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden tener diferentes formas isoméricas. Por ejemplo, cualquier átomo de carbono asimétrico puede estar presente en la configuración (R), (S), o (R,S), de preferencia en la configuración (R) o (S). Los sustituyentes en un doble enlace, o en especial en un anillo, pueden estar presentes en la forma cis (= Z-) o trans (= E-). Los compuestos, por lo tanto, pueden estar presentes como mezclas de isómeros o de preferencia

como los isómeros puros, de preferencia como los diaestereómeros puros o los enantiómeros puros. Los siguientes compuestos de la fórmula (I) existirían en forma tautomérica:



- 5 Para ilustrar el tautomerismo con los siguientes ejemplos específicos, la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (estructura de la derecha, a continuación) es un tautómero de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-3-il)-nicotinamida (estructura de la izquierda, a continuación), y viceversa:

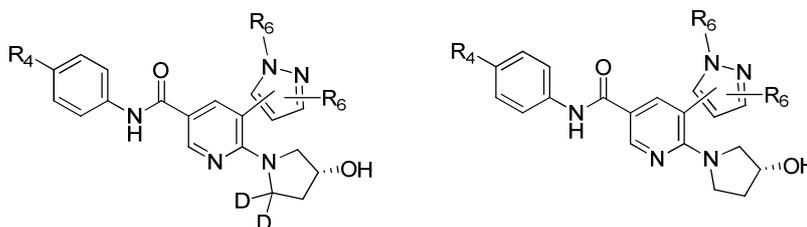


- 10 Cuando se utiliza la forma plural (por ejemplo, los compuestos, las sales), ésta incluye al singular (por ejemplo, un solo compuesto, una sola sal). "Un compuesto" no excluye que esté presente (por ejemplo, en una formulación farmacéutica) más de un compuesto de la fórmula (I) (o de una sal del mismo), en donde "un" meramente representa el artículo indefinido. "Un", por consiguiente, se puede leer de preferencia como "uno o más", y menos preferiblemente de una manera alternativa como "uno".
- 15 Cualesquiera fórmulas dadas en la presente también pretenden representar las formas no marcadas así como las formas isotópicamente marcadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente marcados tienen las estructuras ilustradas por las fórmulas dadas en la presente, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionados. Los ejemplos de los isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente marcados, como se definen en la presente, por ejemplo, aquéllos en donde están presentes isótopos radioactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquéllos en donde están presentes isótopos no radioactivos, tales como ^2H y ^{13}C . Estos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con ^{14}C), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), en las técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo fotón (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución del fármaco o del sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En particular, puede ser particularmente deseable un ^{18}F o un compuesto marcado para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de la invención se pueden preparar en términos generales mediante las técnicas convencionales conocidas por los expertos en este campo o mediante procesos análogos a aquéllos descritos en los ejemplos acompañantes, utilizando los reactivos isotópicamente marcados apropiados.

- Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la vida media in vivo, o requerimientos de dosificación reducida, o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la invención. La concentración de este isótopo más pesado, específicamente deuterio, se puede definir por el factor de enriquecimiento isotópico. El

término "factor de enriquecimiento isotópico", como se utiliza en la presente, significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención es denotado como deuterio, este compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de cuando menos 3,500 (52.5 por ciento de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), de cuando menos 4,000 (60 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 4,500 (67.5 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,000 (75 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,500 (82.5 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,000 (90 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,333.3 (95 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,466.7 (97 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,600 (99 por ciento de incorporación de deuterio), o de cuando menos 6,633.3 (99.5 por ciento de incorporación de deuterio).

Por ejemplo, un compuesto de la fórmula Ib, mostrado en la presente, en donde R₃ es hidrógeno e Y es CH, puede incorporar deuterio en el anillo de pirrolidinilo como se muestra:

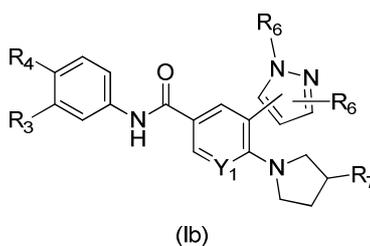


Esta forma deuterada es menos susceptible a la transformación metabólica (izquierda, arriba) comparándose con la forma no deuterada (derecha arriba).

Descripción de las realizaciones preferidas

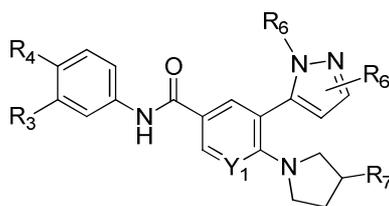
La presente invención se refiere a los compuestos capaces de inhibir la actividad de BCR-ABL1 o de los mutantes de BCR-ABL1 a través del sitio de enlace de miristoilo aloestérico.

En una realización, con respecto a los compuestos de la invención, están los compuestos de la fórmula (Ib):



en donde: R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno; R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃; R₆ cuando está enlazado a un átomo de nitrógeno del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, hidroximetilo, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo; y R₆ cuando está enlazado a un átomo de carbono del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroximetilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo; R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroximetilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo; Y₁ se selecciona a partir de CH y N; Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂; Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo; o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización adicional están los compuestos de la fórmula (Ic):



(Ic)

5 en donde: R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno; R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃; R₆ cuando está enlazado a un átomo de nitrógeno del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, hidroxil-eto, fluoro-eto, etilo y ciclopropilo; y R₆ cuando está enlazado a un átomo de carbono del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxil-metilo, halógeno, amino, fluoro-eto, etilo y ciclopropilo; R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroxil-metilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxil-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxil-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo; Y₁ se selecciona a partir de CH y N; Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂; Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo; o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otra realización, están los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde R₁ es pirazolilo; en donde este pirazolilo está insustituido o sustituido con 1 a 2 grupos R₆.

En una realización adicional, R₁ es un pirazolilo insustituido.

En una realización adicional, R₁ es pirazolilo sustituido con un grupo R₆.

15 En una realización adicional, R₁ es pirazolilo sustituido con dos grupos R₆.

En otra realización, R₂ es pirrolidin-1-ilo sustituido con un grupo R₇.

En otra realización, Y se selecciona a partir de CH y N.

En una realización adicional, Y es N.

En una realización adicional, Y es CH.

20 En otra realización, Y₁ se selecciona a partir de CH y N.

En una realización adicional, Y₁ es N.

En una realización adicional, Y₁ es CH.

Las siguientes realizaciones adicionales se aplican a los compuestos de cualquiera de las fórmulas (I), (IB) o (IC), o a las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 En otra realización, R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno.

En otra realización, R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃.

En una realización adicional, R₄ es cloro-difluoro-metoxilo.

En una realización adicional, R₄ es trifluoro-metoxilo.

30 En otra realización, R₆ en cada presentación se selecciona independientemente a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxil-metilo, halógeno, amino, fluoro-eto, etilo y ciclopropilo.

En una realización adicional, R₆, cuando está enlazado a un átomo de nitrógeno del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, hidroxil-eto, fluoro-eto, etilo y ciclopropilo.

En una realización adicional, R₆, cuando está enlazado a un átomo de carbono del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxi-metilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo.

5 En otra realización, R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroxi-metilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo.

En otra realización, Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂.

En una realización adicional, Y₂ es O.

En una realización adicional, Y₂ es CF₂.

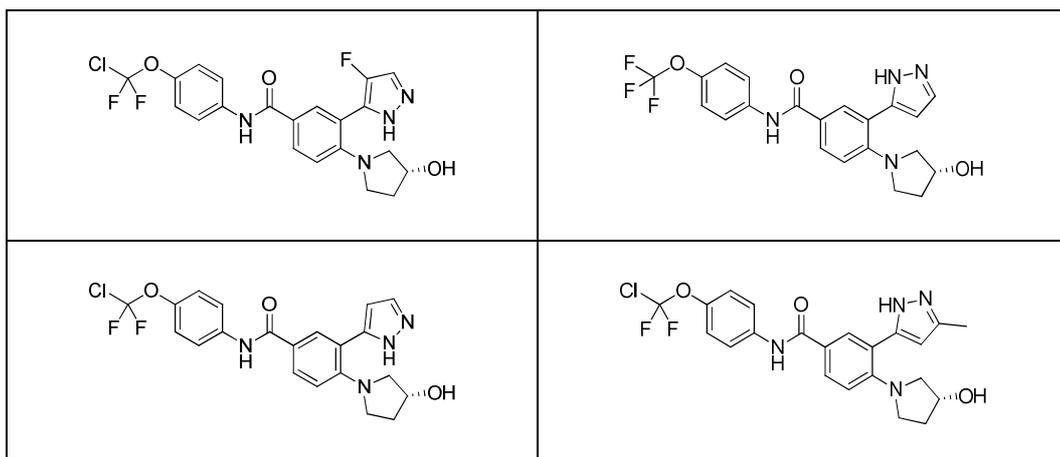
10 En una realización adicional, Y₂ es S(O)₀₋₂.

En otra realización, Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, cloro, flúor, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo.

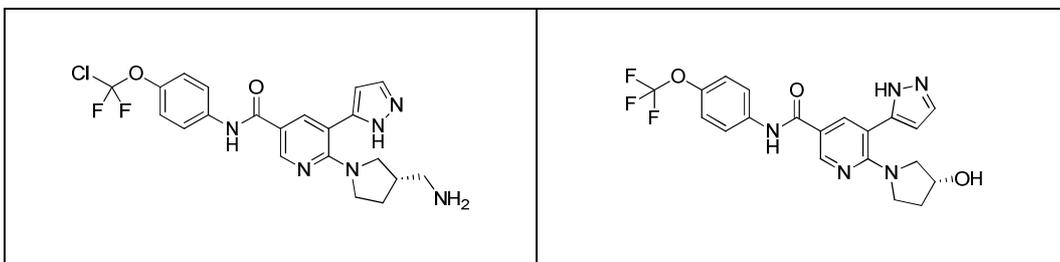
En una realización adicional, Y₃ es cloro.

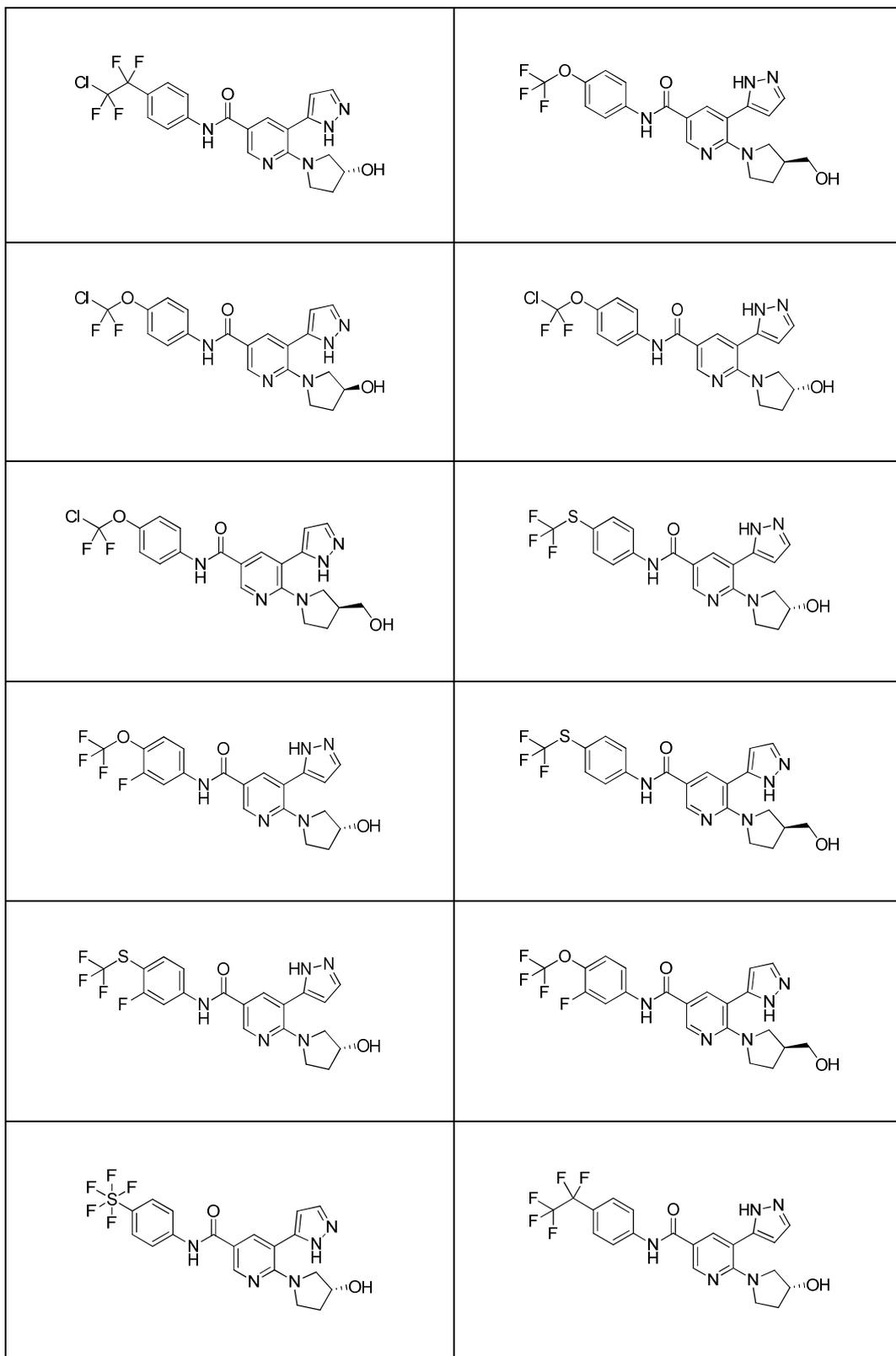
En una realización adicional, Y₃ es flúor.

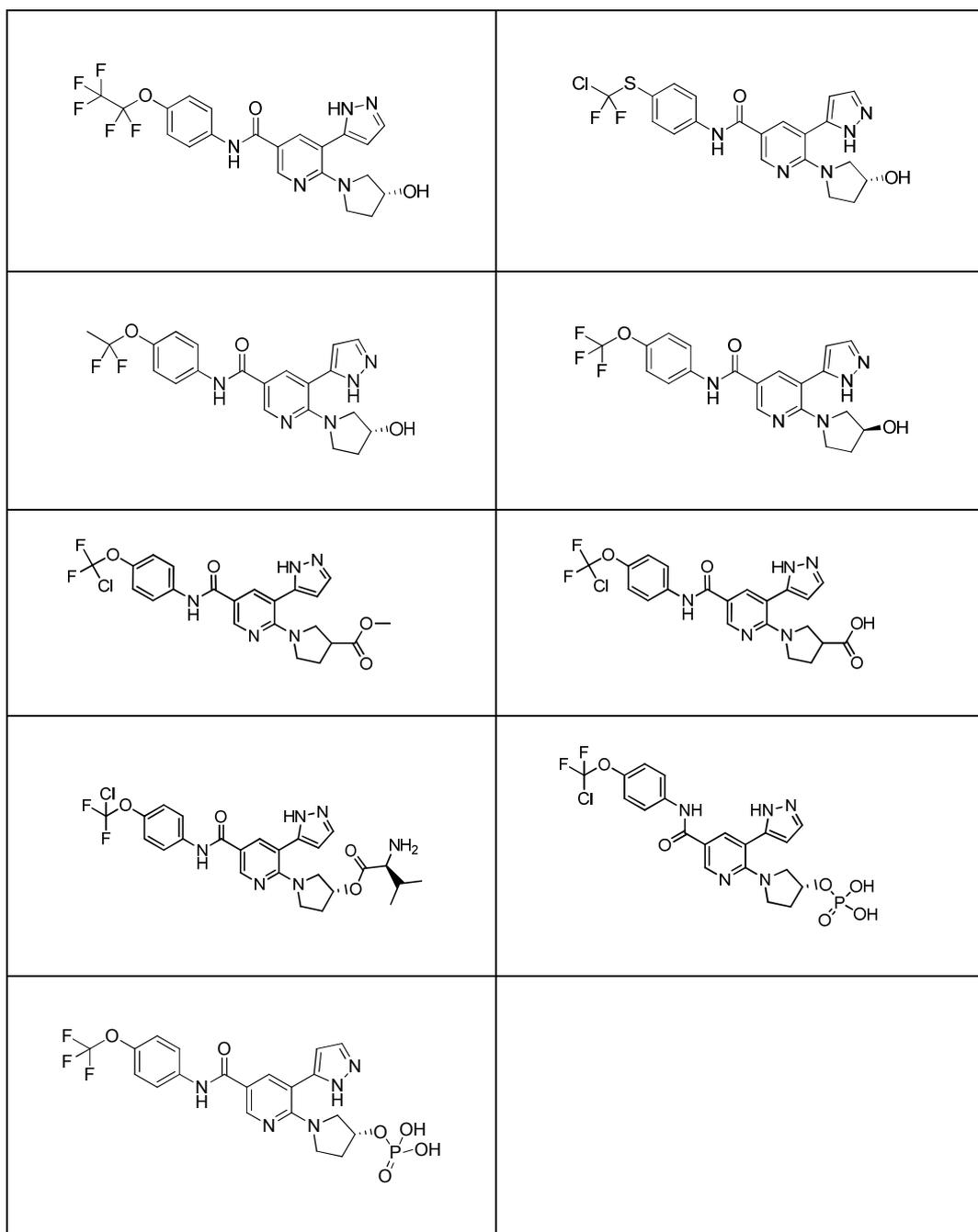
15 En una realización adicional, están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:



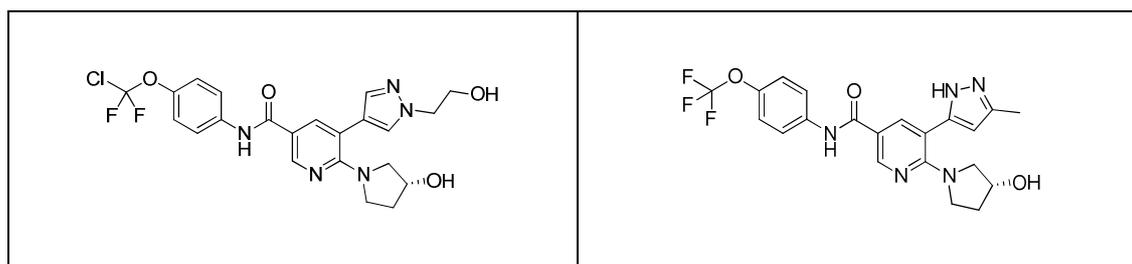
En otra realización, están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

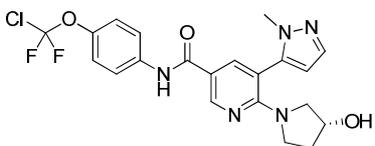
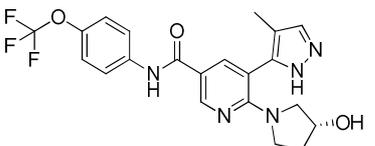
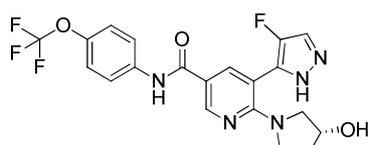
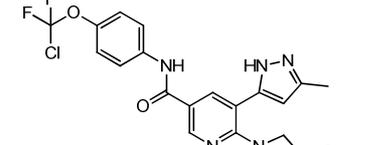
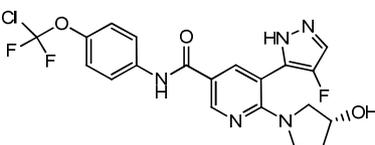
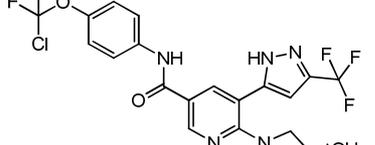
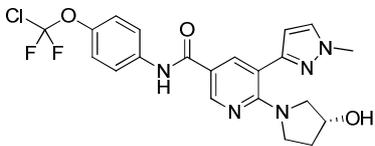
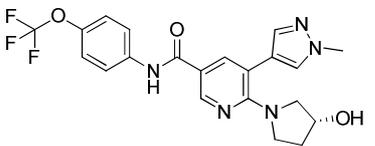
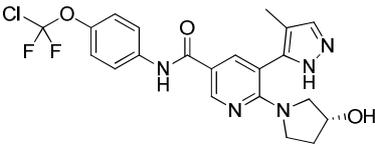
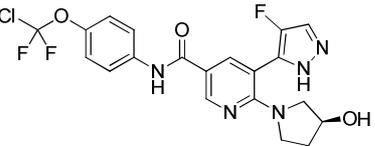




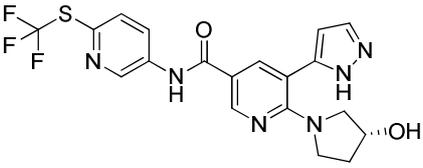


En otra realización, están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

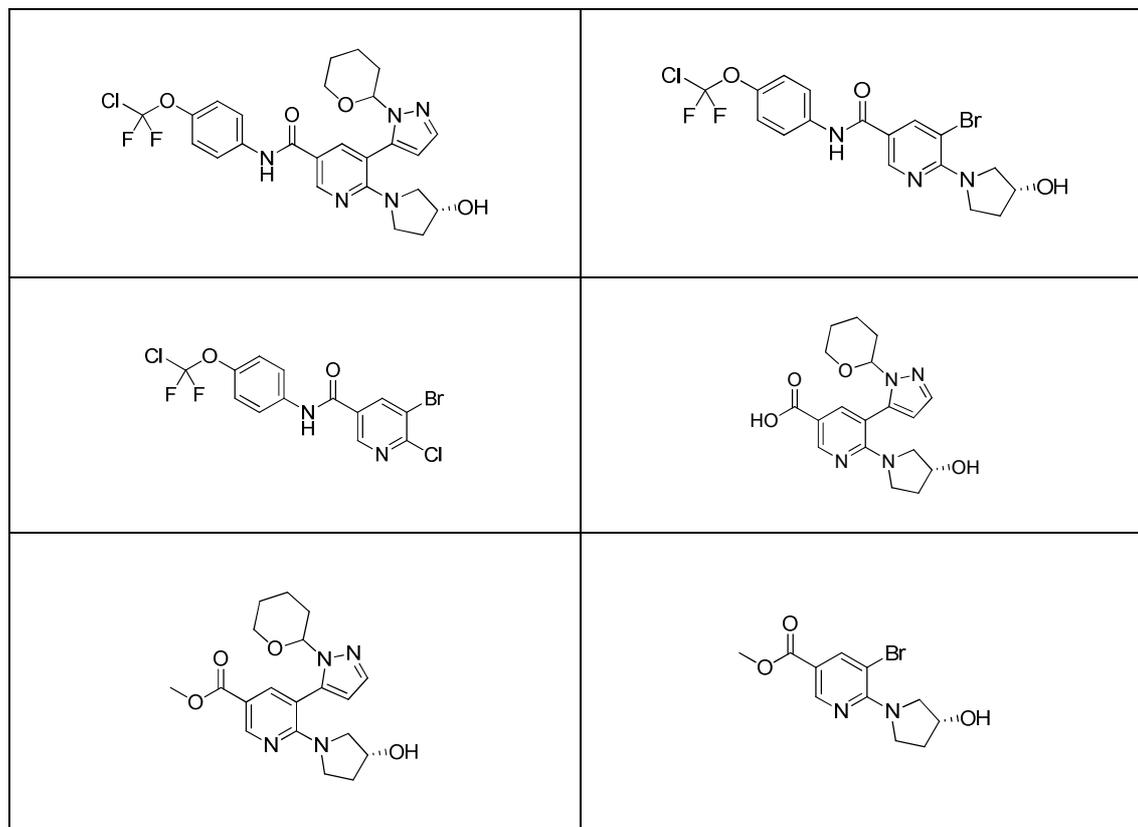


En otra realización, está un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual es:

	
---	--

En otra realización, están los compuestos seleccionados a partir de:



Farmacología y Utilidad

5 Con base en los estudios de inhibición descritos en la sección de "Ensayo" más adelante, un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la invención muestra eficacia terapéutica en especial contra los trastornos dependientes de la actividad de BCR-ABL1. En particular, los compuestos de la presente invención inhiben el sitio de enlace de miristoílo o aloestérico de BCR-ABL1 (incluyendo BCR-ABL1 de tipo silvestre y/o las mutaciones del mismo).

10 La combinación de un inhibidor competitivo con ATP de BCR-ABL1 con un inhibidor aloestérico de BCR-ABL1 retarda la resistencia adquirida en las células BCR-ABL1+KCL-22, in vitro. De una manera sorprendente, las células BCR-ABL1+KCL-22 tratadas cada 3 a 4 días con un compuesto de la invención, mostraron una resistencia adquirida después de aproximadamente 28 días, mientras que estas mismas células tratadas cada 3 a 4 días con nilotinib o dasatinib, mostraron una resistencia adquirida después de solamente 18 a 21 días. De una manera todavía más sorprendente, cuando las células BCR-ABL1+KCL-22 se trataron cada 3 a 4 días con una combinación de un compuesto de la invención y cualquiera de nilotinib o dasatinib, no se observó ninguna resistencia adquirida en cuando menos los primeros 60 días. Por consiguiente, los compuestos del sitio de enlace de miristoílo de la presente invención, en combinación con los inhibidores de BCR-ABL1 que se enlazan al sitio de enlace de ATP, son en especial importantes para el tratamiento de las enfermedades proliferativas que involucren la sobre-regulación de la actividad de cinasa de ABL1, como en el caso de las proteínas de fusión de BCR-ABL1 en la leucemia mieloide crónica (CML) y en los subconjuntos de otras malignidades hematológicas, tales como leucemia linfocítica aguda (ALL) y leucemia mieloblástica aguda (AML).

25 Las células de carcinoma utilizan invadopodia para degradar la matriz extracelular durante la invasión tumoral y la metástasis. La actividad de cinasa de ABL se requiere para la formación de invadopodia inducida por SRC, regulando las distintas etapas del ensamble y la función de invadopodia. Los compuestos de la invención, por consiguiente, como inhibidores de ABL1, tienen el potencial para utilizarse como terapias para el tratamiento de carcinomas invasivos metastásicos.

Se puede utilizar un inhibidor aloestérico de cinasa de ABL1 para tratar cánceres de cerebro: incluyendo Glioblastoma, el cual es el tumor de cerebro primario maligno más común y más agresivo, en donde la expresión de ABL1 es inmunohistoquímicamente detectable en un subconjunto de los pacientes (Haberler C, Gelpi E, Marosi C, Rössler K, Birner P, Budka H, Hainfellner JA. Immunohistochemical analysis of platelet-derived growth factor

receptor-alpha, -beta, c-Kit, ABL1, and ABL2 proteins in glioblastoma: posible implicaciones for patient selection for imatinib mesylate therapy. *J Neurooncol.* Enero de 2006; 76(2): 105-9). Sin embargo, los estudios clínicos con Gleevec® fracasaron en los pacientes con glioblastoma (Reardon DA, Dresemann G, Taillibert S, Campone M, van den Bent M, Clement P, Blomquist E, Gordower L, Schultz H, Raizer J, Hau P, Easaw J, Gil M, Tonn J, Gijtenbeek A, Schlegel U, Bergstrom P, Green S, Weir A, Nikolova Z. Multicentre phase II studies evaluating imatinib plus hydroxyurea in patients with progressive glioblastoma. *Br J Cancer.* 15 de diciembre de 2009; 101(12): 1995-2004; 5
 Rzis E, Selviaridis P, Labropoulos S, Norris JL, Zhu MJ, Song DD, Kalebic T, Torrens M, Kalogera-Fountzila A, Karkavelas G, Karanastasi S, Fletcher JA, Fountzilas G. Phase II study of neoadjuvant imatinib in glioblastoma: evaluation of clinical and molecular effects of the treatment. *Clin Cancer Res.* 1 de octubre de 2009; 15(19): 6258-66; 10
 Dresemann G. Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma multiforme: a patient series. *Ann Oncol.* Octubre de 2005; 16(10): 1702-8), posiblemente debido a la pobre exposición intratumoral cerebral del fármaco, y en ausencia de la barrera hematoencefálica alterada (Holdhoff y colaboradores, *J Neurooncol.* 2010; 97(2): 241-5). El transporte de Gleevec® a través de la barrera hematoencefálica, de hecho, se muestra en los estudios pre-clínicos como limitado por los transportadores de eflujo activo, tales como P-glicoproteína. Éste también es el caso para el dasatinib (Chen Y, Agarwal S, Shaik NM, Chen C, Yang Z, Elmquist WF. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein influence brain distribution of dasatinib. *J Pharmacol Exp Ther.* Septiembre de 2009; 330(3): 956-63). Se sabe que la irradiación mejora la abertura de la barrera hematoencefálica. En los modelos de ratón, la respuesta del glioblastoma multiforme al Gleevec® se correlacionó con un aumento en el retardo del crecimiento tumoral y con la supervivencia cuando se administró Gleevec® en conjunto con irradiación diaria (Geng L, Shinohara ET, Kim D, Tan J, Osusky K, Shyr Y, Hallahan DE. STI571 (Gleevec) improves tumor growth delay and survival in irradiated mouse models of glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 de enero de 2006; 64(1): 263-71). Por consiguiente, un nuevo inhibidor de ABL1 con una alta exposición en el cerebro, representa un planteamiento terapéutico sólido para el glioblastoma y otros cánceres de cerebro.

CNS-CML: En algunos pacientes con leucemia mieloide crónica (CML) tratados con Gleevec®, se ha reportado la crisis blástica y la falla del sistema nervioso central (CNS), y esto se puede explicar por la pobre exposición cerebral del Gleevec®. (Kim HJ, Jung CW, Kim K, Ahn JS, Kim WS, Park K, Ko YH, Kang WK, Park K. Isolated blast crisis in CNS in a patient with chronic myelogenous leukemia maintaining major cytogenetic response after imatinib. *J Clin Oncol.* 20 de agosto de 2006; 24(24): 4028-9; Radhika N, Minakshi M, Rajesh M, Manas BR, Deepak Kumar M. Central nervous system blast crisis in chronic myeloid leukemia on imatinib mesylate therapy: report of two cases. *Indian J Hematol Blood Transfus.* Marzo de 2011; 27(1): 51-4). De hecho, en los pacientes con leucemia mieloide crónica (CML), la concentración de Gleevec® es, de hecho, mucho más baja (por aproximadamente 100 veces) en el sistema nervioso central (CNS) que en el plasma (Leis JF, Stephan DE, Curtin PT, Ford JM, Peng B, Schubach S, Druker BJ, Maziarz RT. Central nervous system failure in patients with chronic myelogenous leukemia lymphoid blast crisis and Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib (STI-571). *Leuk Lymphoma.* Abril de 2004; 45(4): 695-8). Por consiguiente, los inhibidores de ABL1 de la presente invención que muestran una alta exposición cerebral representan un planteamiento válido para el desarrollo de terapias contra la leucemia mieloide crónica (CML) incluyendo la leucemia mieloide crónica del sistema nervioso central (CNS-CML).

Los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de virus. Por ejemplo, las infecciones virales pueden ser mediadas por la actividad de cinasa de ABL1, como en el caso del pox-virus y del virus Ébola. Se ha demostrado que Gleevec® y Tasigna® detienen la liberación de las partículas virales de Ébola a partir de las células infectadas, in vitro (Kalman, Daniel; Bornmann, William Gerard, *Methods of use of non-ATP competitive tyrosine kinase inhibitors to treat pathogenic infection, Solicitud Internacional del TCP del 2007, WO 2007002441*; Garcia Mayra; Cooper Arik; Shi Wei; Bornmann William; Carrion Ricardo; Kalman Daniel; Nabel Gary J. *Productive Replication of Ebola Virus Is Regulated by the ABL1 Tyrosine Kinase. Science translational medicine, 2012; 4: 123ra24*). Por consiguiente, se puede esperar que los compuestos de la presente invención que inhiben la cinasa ABL1, reduzcan la capacidad del patógeno para replicarse.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de degeneración neural. Aunque la cinasa de tirosina ABL1 nativa sigue siendo relativamente quiescente en el cerebro adulto sano, se puede activar en el cerebro de los pacientes con enfermedades del sistema nervioso central (CNS), incluyendo las enfermedades neurodegenerativas, tales como enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Parkinson (AD), demencia frontotemporal (FTD), enfermedad de Picks, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NPC), y otras enfermedades degenerativas, inflamatorias y autoinmunes, y el envejecimiento.

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad crónica neurodegenerativa más prevalente, siendo la forma autosomal-recesiva familiar más común causada por las mutaciones en la ligasa de ubiquitina E3, parkina. Los estudios recientes mostraron que se encontró ABL1/ABL2 activada en el estriato de los pacientes con enfermedad de Parkinson esporádica. De una manera concomitante, la parkina fue fosforilada por tirosina, provocando la pérdida de su ligasa de ubiquitina y las actividades citoprotectoras, como se indica por la acumulación de los sustratos de parkina (Ko HS, Lee Y, Shin JH, Karuppagounder SS, Gadad BS, Koleske AJ, Pletnikova O, Troncoso JC, Dawson VL, Dawson TM. Phosphorylation by the c-Abl protein tyrosine kinase inhibits parkin's ubiquitination and protective function. *Proc Natl Acad Sci EUA.* 21 de septiembre de 2010; 107(38): 16691-6; Imam SZ, Zhou Q, Yamamoto A, Valente AJ, Ali SF, Bains M, Roberts JL, Kahle PJ, Clark RA, Li S. Novel regulation of

parkin function through c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci.* 5 de enero de 2011; 31(1): 157-63). Estos dos estudios también mostraron que en los modelos celulares o animales de la enfermedad de Parkinson, la inhibición farmacológica de la cinasa ABL1 o la eliminación genética de ABL1, impidió la fosforilación de tirosina de la parquina, y restauró su actividad de ligasa E3 y su función citoprotectora, tanto in vitro como in vivo. Estos resultados indican que la fosforilación de tirosina dependiente de ABL1 de la parquina es una modificación mayor posterior a la traducción que conduce a la pérdida de la función de parquina y al progreso de la enfermedad en la enfermedad de Parkinson (PD) esporádica. Por consiguiente, se puede esperar que la capacidad de los compuestos de la invención para inhibir el sitio de enlace de miristato de ABL1, ofrezca nuevas oportunidades terapéuticas para bloquear el progreso de la enfermedad de Parkinson.

10 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por dos características principales: los depósitos extracelulares del amiloide- β neurotóxico que conduce al desarrollo de la placa amiloide, y la acumulación intracelular de la tau hiperfosforilada que contribuye al desarrollo de madejas neurofibrilares (NFTs).

El nivel de amiloide- β se reduce en seguida del tratamiento intratecal con Gleevec® en el cerebro de cobayos de tipo silvestre y en los modelos celulares (Netzer WJ, Dou F, Cai D, Veach D, Jean S, Li Y, Bornmann WG, Clarkson B, Xu H, Greengard P. Gleevec inhibits beta-amiloide production but not Notch cleavage. *Proc Natl Acad Sci EUA.* 14 de octubre de 2003; 100(21): 12444-9). El mismo grupo propuso que Gleevec® logra su efecto reductor de amiloide- β por medio de un nuevo mecanismo que previene la interacción de GSAP con el sustrato de gamma-secretasa, APP-CTF (He G, Luo W, Li P, Remmers C, Netzer WJ, Hendrick J, Bettayeb K, Flajolet M, Gorelick F, Wennogle LP, Greengard P. Gamma-secretase activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Nature.* 2 de septiembre de 2010; 467(7311): 95-8). En este estudio, el efecto de Gleevec® para inhibir GSAP/APP-CTF solamente se vio en concentraciones micromolares. Otro grupo mostró que la fosforilación de tirosina del dominio intracelular APP (es decir, Tyr682) regula el procesamiento amiloidogénico de APP que acelera la formación de amiloide- β in vivo (Barbagallo AP, Weldon R, Tamayev R, Zhou D, Giliberto L, Foreman O, D'Adamio L. Tyr(682) in the intracellular domain of APP regulates amyloidogenic APP processing in vivo. *PLoS One.* 16 de noviembre de 2010; 5(11): e15503). Otros estudios mostraron que APP es fosforilada por tirosina en las células que expresan una forma constitutivamente activa del oncogén de ABL1 (Zambrano N, Bruni P, Minopoli G, Mosca R, Molino D, Russo C, Schettini G, Sudol M, Russo T. The beta-amyloid precursor protein APP is tyrosine-phosphorylated in cells expressing a constitutively active form of the Abl protooncogene. *J Biol Chem.* 8 de junio de 2001; 276(23): 19787-92). Estos datos juntos sugieren un procesamiento de APP amiloidogénico dependiente de ABL1 para la formación del péptido amiloide- β tóxico, y las subsiguientes placas amiloideas. Por consiguiente, se esperaría que un inhibidor de ABL1 reduzca la formación de placa amiloidea en los pacientes de Alzheimer.

Se ha demostrado que Tau es fosforilada por la cinasa ABL1 en las tirosinas 18, 197, 310, y 394 en los modelos celulares, y se ha demostrado que tau pY394 está presente en las lesiones de las madejas neurofibrilares (NFTs) en el cerebro de los pacientes con enfermedad de Alzheimer (AD).

35 ABL1 se activa en el cerebro de los pacientes con enfermedad de Alzheimer esporádica, como se muestra por su fosforilación ya sea en Y412, un indicador de la activación, que co-localiza la degeneración granulovacuolar, o en T735 que se co-localiza con las lesiones típicas, las placas amiloideas, las madejas neurofibrilares (NFTs) en adición a GVD. El amiloide- β y la tensión oxidativa activan la cinasa ABL1 en los cultivos neuronales, y la inyección intracerebral del péptido amiloide fibrilar conduce a un aumento de la expresión de ABL1 y un efector corriente abajo p73. Los ratones transgénicos (el modelo de enfermedad de Alzheimer (AD) de ratón APP/Swe), mostró niveles más altos de ABL1 en su cerebro y, cuando estos ratones se trataron con el inhibidor de ABL1 Gleevec®, disminuyó la fosforilación de tau en sus cerebros. Un modelo de ratón transgénico que expresaba la ABL1 constitutivamente activa en las neuronas del cerebro anterior, exhibió pérdida neuronal, neuroinflamación grave, y fosforilación de tirosina de tau en el cerebro (para una revisión, véase Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. *J Mol Neurosci.* Noviembre de 2011; 45(3): 445-52).

Basándose en todos estos resultados, existe evidencia de una función para la cinasa ABL1 en la patogénesis de Alzheimer para el desarrollo de ambas lesiones, las placas amiloideas y las madejas neurofibrilares.

Además, también está presente la ABL1 activada en otras taupatías además de Alzheimer esporádica, incluyendo en el cerebro de los pacientes con demencia fronto-temporal con N279K y mutaciones P301L, enfermedad de Pick, y demencia por Parkinson Guam (Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. *J Mol Neurosci.* Noviembre de 2011; 45(3): 445-52).

Por consiguiente, los compuestos de la presente invención, mediante la inhibición de ABL1 en el sistema nervioso central (CNS), representan un planteamiento válido para el desarrollo de terapias contra la enfermedad de Alzheimer, así como otras β -amiloidosis, tales como demencia vascular y otras taupatías, tales como demencia fronto-temporal y enfermedad de Picks.

La enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NPC) es un trastorno recesivo autosomal fatal caracterizado por la acumulación de colesterol libre y glicosfingolípidos en el sistema endosomal-lisosomal, y por la muerte neuronal progresiva, en particular de las neuronas de Purkinje cerebelares. En un modelo de enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NPC) de ratón, la ABL1 proapoptótica, el objetivo corriente abajo, así como los genes objetivos de p73, se expresan en los cerebelos. La inhibición de ABL1 con Gleevec® previno la pérdida de las neuronas de Purkinje, mejoró los síntomas neurológicos, y aumentó la sobrevivencia. Este efecto pro-sobrevivencia del Gleevec® se correlacionó con los niveles reducidos de ARNm de los genes objetivo pro-apoptóticos de p73 (Alvarez AR, Klein A, Castro J, Cancino GI, Amigo J, Mosqueira M, Vargas LM, Yévenes LF, Bronfman FC, Zanlungo S. Imatinib therapy blocks cerebellar apoptosis and improves neurological symptoms in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. FASEB J. Octubre de 2008; 22(10): 3617-27). Por consiguiente, los compuestos de la presente invención, mediante la inhibición de la cinasa ABL1, representan un planteamiento válido para el desarrollo de terapias contra las enfermedades causadas por la senda ABL1/p73 pro-apoptótica, tal como la enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NPC).

En los modelos de enfermedad de priones, Gleevec® mostró efectos benéficos: Retardó la neuroinvasión de priones mediante la inhibición de la propagación de priones desde la periferia hacia el sistema nervioso central (CNS) (Yun SW, Ertmer A, Flechsig E, Gilch S, Riederer P, Gerlach M, Schätzl HM, Klein MA. The tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate delays prion neuroinvasion by inhibiting prion propagation in the periphery. J Neurovirol. Agosto de 2007; 13(4): 328-37). Gleevec® y la deficiencia de ABL1 indujeron la eliminación celular de PrPSc en las células infectadas por priones (Ertmer A, Gilch S, Yun SW, Flechsig E, Klebl B, Stein-Gerlach M, Klein MA, Schätzl HM. The tyrosine kinase inhibitor STI571 induces cellular clearance of PrPSc in prion-infected cells. J Biol Chem. 1 de octubre de 2004; 279(40): 41918-27). Por consiguiente, los inhibidores de ABL1 novedosos de la presente invención también representan un planteamiento terapéutico válido para el tratamiento de las enfermedades de priones, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob.

La distrofia muscular de Emery-Dreifuss recesiva ligada a X es causada por las mutaciones de emerina, una proteína de membrana nuclear con funciones en la arquitectura nuclear, en la regulación genética, y en la señalización. Un estudio reciente demostró que la emerina es fosforilada en la tirosina directamente por ABL1 en los modelos celulares, y que el estado de fosforilación de la emerina cambia el enlace de la emerina a otras proteínas, tales como BAF. A su vez, esto puede explicar la mala localización de la emerina mutante desde los compartimientos nucleares a citosólicos y, en consecuencia, los cambios en el efector corriente abajo y en el integrador de señales para las sendas de señalización en la envoltura nuclear (Tifft KE, Bradbury KA, Wilson KL. Tyrosine phosphorylation of nuclear-membrane protein emerina by SRC, ABL1 and other kinases. J Cell Sci. 2009 Oct 15;122(Pt 20):3780-90). Los cambios en las interacciones de emerina-lamina durante tanto la mitosis como la interfase son relevantes para la patología de las distrofias musculares. En adición, los resultados de otro estudio demuestran que Gleevec® atenúa la distrofia del músculo esquelético en los ratones mdx (Huang P, Zhao XS, Fields M, Ransohoff RM, Zhou L. Imatinib attenuates skeletal muscle dystrophy in mdx mice. FASEB J. Agosto de 2009; 23(8): 2539-48).

Por consiguiente, los inhibidores de ABL1 novedosos de la presente invención también representan planteamientos terapéuticos para el tratamiento de distrofias esqueléticas y musculares.

Adicionalmente, la cinasa ABL1 tiene una función en la inflamación y en la tensión oxidativa, dos mecanismos que están implicados en una variedad de enfermedades humanas en la gama desde enfermedades agudas del sistema nervioso central (CNS), tales como embolia y lesiones traumáticas del cerebro o de la médula espinal, enfermedades crónicas del sistema nervioso central (CNS), tales como las enfermedades de Alzheimer, de Parkinson, de Huntington, y de las motoneuronas, hasta la enfermedades inflamatorias y autoinmunes que no son del sistema nervioso central (CNS), tales como diabetes, fibrosis pulmonar.

Por ejemplo, Gleevec® previene la fibrosis en diferentes modelos pre-clínicos de esclerosis sistémica, e induce la regresión de la fibrosis establecida (Akhmetshina A, Venalis P, Dees C, Busch N, Zwerina J, Schett G, Distler O, Distler JH. Treatment with imatinib prevents fibrosis in different preclinical models of systemic sclerosis and induces regression of established fibrosis. Arthritis Rheum. Enero de 2009; 60(1): 219-24), y muestra efectos antifibróticos en la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina en los ratones (Aono Y, Nishioka Y, Inayama M, Ugai M, Kishi J, Uehara H, Izumi K, Sone S. Imatinib as a novel antifibrotic agent in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Am J Respir Crit Care Med. 1 de junio de 2005; 171(11): 1279-85). Otro estudio mostró que tanto el imatinib como el nilotinib atenuaban la lesión pulmonar aguda y la fibrosis pulmonar inducidas por bleomicina en los ratones (Rhee CK, Lee SH, Yoon HK, Kim SC, Lee SY, Kwon SS, Kim YK, Kim KH, Kim TJ, Kim JW. Effect of nilotinib on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice. Respiration. 2011;82(3):273-87). Aunque en estos estudios los autores se enfocaron en la implicación del mecanismo relacionado con los PDGFRs de interés, en el estudio por Rhee y colaboradores (Respiration. 2011; 82(3): 273-87), el nilotinib que es un inhibidor de c-ABL más potente que el imatinib, mostró efectos antifibróticos terapéuticos superiores, apoyando, por consiguiente, la aplicabilidad terapéutica de los inhibidores de c-ABL para el tratamiento de las enfermedades humanas con inflamación pulmonar. En otro estudio, la exposición de los ratones a hiperoxia aumentó la activación de ABL1, la cual es requerida para la fosforilación de dinamina-2 y la producción de especies de oxígeno reactivo, así como

filtración pulmonar (Singleton PA, Pendyala S, Gorshkova IA, Mambetsariev N, Moitra J, Garcia JG, Natarajan V. Dynamins 2 and c-Abl are novel regulators of hyperoxia-mediated NADPH oxidase activation and reactive oxygen species production in caveolin-enriched microdomains of the endothelium. *J Biol Chem.* 11 de diciembre de 2009; 284(50): 34964-75).

- 5 Por consiguiente, estos datos indican que los nuevos inhibidores de c-ABL de la presente invención tienen aplicabilidad terapéutica para el tratamiento de las enfermedades humanas con inflamación pulmonar.

La activación de ABL1 mediante la insulina, por medio de una modificación de la respuesta FAK, puede tener una función importante en la dirección de la señalización mitogénica contra el receptor de insulina metabólico (Genua M, Pandini G, Cassarino MF, Messina RL, Frasca F. c-Abl and insulin receptor signalling. *Vitam Horm.* 2009; 80: 77-105). Los inhibidores de c-ABL, tales como Gleevec® han demostrado que revierten la diabetes tipo 1 en los ratones diabéticos no obesos (Louvet C, Szot GL, Lang J, Lee MR, Martinier N, Bollag G, Zhu S, Weiss A, Bluestone JA. Tyrosine kinase inhibitors reverse type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci EUA.* 2 de diciembre de 2008; 105(48): 18895-900). La mitigación de la diabetes mediante Gleevec® fue imitada mediante la eliminación genética del ARNm de ABL1 mediada por el siARN (Hägerkvist R, Sandler S, Mokhtari D, Welsh N. Amelioration of diabetes by imatinib mesylate (Gleevec): role of beta-cell NF-kappaB activation and anti-apoptotic preconditioning. *FASEB J.* Febrero de 2007; 21(2): 618-28).

Por consiguiente, los nuevos inhibidores de ABL1 de la presente invención tienen aplicabilidad terapéutica para el tratamiento de diabetes humana.

20 Un inhibidor de ABL1 de la presente invención se puede utilizar en combinación con uno o más de los tratamientos existentes para las enfermedades anteriores: por ejemplo, un inhibidor de ABL1 de la presente invención se puede utilizar en combinación con Levodopa o con otros medicamentos que contengan L-DOPA, o con un agonista de dopamina para el tratamiento de enfermedad de Parkinson, o en combinación con un inhibidor de colinesterasa, tal como una cápsula o un parche transdérmico de Exelon para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer.

25 En la leucemia mielógena crónica (CML), una translocalización cromosómica equilibrada recíproca en las células madre hematopoiéticas (HSCs) produce el gen híbrido de BCR-ABL1. Éste último codifica la proteína de fusión oncogénica de BCR-ABL1. Mientras que ABL1 codifica una cinasa de tirosina de las proteínas estrechamente regulada, la cual tiene una función fundamental en la regulación de la proliferación, adherencia y apoptosis celular, el gen de fusión de BCR-ABL1 se codifica como una cinasa constitutivamente activada. Esta cinasa activada transforma las HSCs para producir un fenotipo que exhibe una proliferación clonal desregulada, una capacidad reducida para adherirse al estroma de la médula ósea, y una respuesta apoptótica reducida a los estímulos mutagénicos, que da como resultado transformaciones progresivamente más malignas. Los granulocitos resultantes fracasan para desarrollarse hasta linfocitos maduros, y se liberan en la circulación, conduciendo a una deficiencia en las células maduras y a un aumento en la susceptibilidad a las infecciones. Se ha demostrado que los inhibidores de BCR-ABL1 competitivos con ATP impiden que la cinasa active las sendas mitogénicas y anti-apoptóticas (por ejemplo, la cinasa PI-3 y STAT5), conduciendo a la muerte de las células del fenotipo BCR-ABL1, y proporcionando de esta manera una terapia efectiva contra la leucemia mieloide crónica (CML). La línea celular KCL-22 (adquirida en DSMZ, Leibniz Institute, Alemania) se establece a partir de la efusión pleural de una mujer de 32 años de edad con leucemia mieloide crónica (CML) positiva para el cromosoma Filadelfia en crisis blástica en 1981, y se ha descrito que contiene el t(9;22) que conduce al gen de fusión de BCR-ABL1 y a una mutación de p53. Las líneas celulares KCL-22 se pueden utilizar en modelos de xenoinjerto para mostrar la eficacia in vivo de los compuestos de la invención (véase la sección de Ensayo, más adelante). Los compuestos de la invención, como inhibidores de BCR-ABL1, incluyendo los mutantes de los mismos, por consiguiente, son en especial apropiados para la terapia de las enfermedades relacionadas con su sobre-expresión, tales como las leucemias ALL o CML.

45 También se ha demostrado que los compuestos de la invención tienen una actividad anti-tumoral, in vitro: La actividad anti-tumoral in vitro se prueba, por ejemplo, utilizando líneas celulares leucémicas, tales como Ba/F3-BCR-ABL1, KCL-22, K-562, MEG-01, KYO-1, LAMA-84, KU812, EM-2, CML-T1, BV-173, o ALL-SIL.

Un compuesto de la invención o una composición farmacéutica se puede usar en un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica.

- 50 Se puede administrar un agente terapéutico adicional.

En una realización adicional, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de BCR-ABL1 diferente seleccionado a partir de imatinib, nilotinib, dasatinib, dosutinib, radotinib, ponatinib y bafetinib.

Un método para el tratamiento de una condición mediada por BCR-ABL1, puede comprender administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad efectiva de un compuesto de la invención, o de una composición farmacéutica.

BCR-ABL1 puede contener una o más mutaciones. Estas mutaciones incluyen V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C y F359V (UJane F. Apperley. Parte 1: Mechanism of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. Lancet Oncology 2007; 8: 1018).

5 Una condición mediada por BCR-ABL1 puede ser tratada, en donde el BCR-ABL1 contiene una o más mutaciones seleccionadas a partir de V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C y F359V.

El compuesto se puede administrar parenteralmente.

El compuesto se puede administrar intramuscularmente, intravenosamente, subcutáneamente, oralmente, pulmonarmente, intratecalmente, tópicamente o intranasalmente.

El compuesto se puede administrar sistémicamente.

10 El paciente puede ser un mamífero.

El paciente puede ser un primate.

El paciente puede ser un ser humano.

15 Un método para el tratamiento de un trastorno mediado por ABL1/BCR-ABL1, el cual comprende el paso de: administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente quimioterapéutico en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I).

En otro aspecto, es un compuesto de la fórmula I, o cualquiera de las realizaciones específicas del mismo, descritas anteriormente, para utilizarse en el tratamiento de cáncer.

En un aspecto adicional, el cáncer es leucemia seleccionada a partir de leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL).

20 En otro aspecto, es un compuesto de la fórmula I o cualquiera de las realizaciones específicas del mismo, para utilizarse en el tratamiento de cáncer en combinación con un compuesto adicional seleccionado a partir de imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib.

En un aspecto adicional, el compuesto de la fórmula I es la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida.

25 En un aspecto adicional, el compuesto de la fórmula I es una sal farmacéuticamente aceptable de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional se administra en secuencia.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional se administra de una manera simultánea.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional es nilotinib.

30 En un aspecto adicional, el compuesto adicional es imatinib.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional es dasatinib.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional es bosutinib.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional es ponatinib.

En un aspecto adicional, el compuesto adicional es bafetinib.

35 Composiciones Farmacéuticas

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos descritos anteriormente, formulados junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe con detalle más adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para su

administración en una forma sólida o líquida, incluyendo aquéllas adaptadas para las siguientes: (1) administración oral, por ejemplo, líquidos (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), tabletas, por ejemplo, aquéllas dirigidas para absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para su aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento, o un parche de liberación controlada o aspersion aplicada a la piel; (4) intravaginalmente, o intra-rectalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; (8) nasalmente; (9) pulmonar; o (10) intratecalmente.

La frase "cantidad terapéuticamente efectiva", como se utiliza en la presente, significa la cantidad de un compuesto, material, o una composición, la cual comprende un compuesto de la presente invención, el cual es efectivo para producir algún efecto terapéutico deseado en cuando menos una sub-población de células en un animal, en una proporción razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente para referirse a los compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que, dentro del alcance de un buen juicio médico, son adecuados para utilizarse en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, de una manera conmensurada con una proporción razonable de beneficio/riesgo.

La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente, significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno, diluyente, excipiente, auxiliar de manufactura, líquido o sólido (por ejemplo, lubricante, talco, magnesio, calcio o estearato de zinc, o ácido esteárico), o un material encapsulador de solvente, involucrado en la portación o el transporte del compuesto objeto desde un órgano, o porción del cuerpo, hasta otro órgano, o porción del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente lastimado. Algunos ejemplos de los materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboxi-metil-celulosa de sodio, etil-celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como un aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de azafrán, aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de semilla de soya; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua sin pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras del pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhidridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en las formulaciones farmacéuticas.

Como se estipula anteriormente, ciertas realizaciones de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino, o alquil-amino, y, por consiguiente, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" con respecto a esto, se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar in situ en el vehículo de administración o en el proceso de elaboración de la forma de dosificación, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal formada de esta manera durante la purificación subsiguiente. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y lauril-sulfonato, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y colaboradores (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos objeto incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, a partir de los ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, estas sales no tóxicas convencionales incluyen aquéllas derivadas a partir de ácidos inorgánicos, tales como clorhidrato, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenil-acético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxi-benzoico, fumárico, toluen-sulfónico, metan-sulfónico, etan-disulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos ácidos funcionales y, por consiguiente, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estas instancias se refiere a las sales de adición de base inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar de la misma manera in situ en el vehículo de administración o en el proceso de elaboración de la

forma de dosificación, o mediante la reacción por separado del compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de las sales de adición de base incluyen etil-amina, dietil-amina, etilen-diamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y colaboradores, supra).

También pueden estar presentes en las composiciones los agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril-sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como los agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservadores y antioxidantes.

Los ejemplos de los antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio, y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilen-diamina-tetra-acético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquéllas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar, de una manera conveniente, en una forma de dosificación unitaria, y se pueden preparar mediante cualesquiera métodos bien conocidos en la materia de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo del huésped que sea tratado y del modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación, en términos generales, será la cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico. En términos generales, del cien por ciento, esta cantidad estará en el intervalo de aproximadamente el 0.1 por ciento a aproximadamente el noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, de preferencia de aproximadamente el 5 por ciento a aproximadamente el 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 30 por ciento.

En ciertas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado a partir del grupo que consiste en ciclodextrinas, celulosas, liposomas, agentes formadores de micelios, por ejemplo, ácidos biliares, y vehículos poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas realizaciones, una formulación anteriormente mencionada hace que un compuesto de la presente invención sea oralmente biodisponible.

Los métodos para la preparación de estas formulaciones o composiciones incluyen el paso de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación de una manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con los vehículos líquidos, o con los vehículos sólidos finamente divididos, o con ambos, y entonces, si es necesario, se configura el producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para su administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, pastillas, píldoras, tabletas, grageas (utilizando una base saborizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución, suspensión o dispersión sólida en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno conteniendo una cantidad previamente determinada de un compuesto de la presente invención, como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

Una formulación en dispersión sólida de la invención comprende, por ejemplo, una dispersión amorfa de un compuesto de la invención, un excipiente (copolímeros, tales como polivinil-pirrolidina (PVP) VA64 (Kollidon® VA64 o Copovidona), y similares). La dispersión sólida se puede mejorar adicionalmente con hidroxipropilmetilcelulosas (HPMCs) de baja viscosidad (tales como Pharmacoat 603, Methocel E3, o similares). Véase el Ejemplo 41, más adelante, para conocer los detalles más específicos para la preparación de una formulación de dispersión sólida de la invención.

En una realización de la invención, se presenta una composición farmacéutica, la cual comprende una dispersión amorfa de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), y de 1 a 2 excipientes; en donde el excipiente se selecciona a partir de HPMC AS, Pharmacoat 603, Eudragit L100, PVP K30, PVP VA64 y Eudragit EPO.

En una realización adicional, los excipientes son PVP VA64 y Pharmacoat 603.

En una realización adicional, el porcentaje de Pharmacoat 603 está en el intervalo del 30 por ciento al 45 por ciento, el porcentaje de PVP VA64 está en el intervalo del 30 por ciento al 45 por ciento, y el porcentaje de (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) está en el intervalo del 20 por ciento al 30 por ciento.

- 5 En una realización adicional, el porcentaje de Pharmacoat 603 es del 37.5 por ciento, el porcentaje de PVP VA64 es del 37.5 por ciento, y el porcentaje de (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) es del 25 por ciento.

10 En las formas de dosificación sólidas de la invención, para su administración oral (cápsulas, tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos, trociscos, y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o difosfato de calcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) rellenos o extensores, tal como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboxi-metil-celulosa, alginatos, gelatina, polivinil-pirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, y tensoactivos, tales como poloxámero y lauril-sulfato de sodio; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol, y tensoactivos no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato de sodio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico, y mezclas de los mismos; (10) agentes colorantes; y (11) agentes de liberación controlada, tales como crospovidona o etil-celulosa. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en las cápsulas de gelatina de cubierta blanda y dura utilizando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

25 Una tableta se puede hacer mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Las tabletas comprimidas se pueden preparar utilizando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroximetil-celulosa), diluyente inerte, conservador, desintegrante (por ejemplo, glicolato de almidón de sodio o carboxi-metil-celulosa de sodio reticulada), agente de actividad superficial o de dispersión. Las tabletas moldeadas se pueden hacer mediante el moldeo, en una máquina adecuada, de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

35 Las tabletas, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos, opcionalmente se pueden marcar o preparar con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos hemisféricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También se pueden formular para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en las mismas, utilizando, por ejemplo, hidroxipropil-metil-celulosa en diferentes proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para liberación rápida, por ejemplo, se pueden secar por congelación. Se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o en algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de usarse. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y pueden ser de una composición tal que liberen los ingredientes activos solamente, o preferencialmente, en cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente en una forma retardada. Los ejemplos de las composiciones de empotramiento que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en una forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más excipientes anteriormente descritos.

45 Las formas de dosificación líquidas para administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables. En adición al ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en este campo, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilen-glicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino, y de ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilen-glicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

55 Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes, y conservadores.

Las suspensiones, en adición a los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión, como por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de sorbitol y de sorbitán de polioxietileno, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, ágar-ágar, y tragacanto, y mezclas de los mismos.

5 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, el cual se puede preparar mediante la mezcla de uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilén-glicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que sean sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a la temperatura corporal, y por consiguiente, que se fundan en el recto o en la cavidad vaginal y liberen el compuesto activo.

10 Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones en aerosol que contengan los vehículos que son conocidos en la materia como apropiados.

15 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches, e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera conservadores, reguladores del pH, o propelentes que se puedan requerir.

Los ungüentos, pastas, cremas, y geles pueden contener, en adición a un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilén-glicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco, y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

20 Los polvos y aerosoles pueden contener, en adición a un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente los propelentes acostumbrados, tales como cloro-fluoro-hidrocarburos, e hidrocarburos insustituídos volátiles, tales como butano y propano.

25 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Estas formas de dosificación se pueden hacer mediante la disolución o dispersión del compuesto en el medio apropiado. También se pueden utilizar potenciadores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de este flujo se puede controlar ya sea proporcionando una membrana de control de velocidad, o bien dispersando el compuesto activo en una matriz polimérica o en un gel.

30 Las formulaciones oftálmicas, los ungüentos, los polvos, soluciones, y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

35 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se puedan reconstituir hasta soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usarse, las cuales pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, reguladores del pH, bacteriostáticos, solutos que hagan a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido, o agentes de suspensión o espesantes.

40 Los ejemplos de los vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensoactivos.

45 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como conservadores, agentes humectantes, agentes emulsionantes, y agentes de dispersión. Se puede asegurar la prevención de la acción de los microorganismos sobre los presentes compuestos mediante la inclusión de diferentes agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, cloro-butanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares, en las composiciones. En adición, se puede provocar una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que demoren la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

50 En algunos casos, con el objeto de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable hacer más lenta la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de un material cristalino o amorfo que tenga una pobre solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, la cual, a su vez, puede depender del

tamaño del cristal y de la forma cristalina. De una manera alternativa, se lleva a cabo la absorción demorada de una forma de fármaco parenteralmente administrada mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo oleoso.

5 Las formas de depósito inyectable se hacen mediante la formación de matrices microencapsuladas de los presentes compuestos en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-policlicólido. Dependiendo de la proporción del fármaco al polímero, y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli-(orto-ésteres) y poli-(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan mediante el atrape del fármaco en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con el tejido corporal.

10 Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos a seres humanos y animales, se pueden dar por sí mismos o como una composición farmacéutica que contenga, por ejemplo, del 0.1 al 99 por ciento (más preferiblemente, del 10 al 30 por ciento) del ingrediente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Las preparaciones de la presente invención se pueden dar oralmente, parenteralmente, tópicamente, o rectalmente. Desde luego, se dan en las formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en tabletas o en la forma de cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción para los ojos, ungüento, supositorio, etc., administración mediante inyección, infusión o inhalación; administración tópica mediante loción o ungüento; y administración rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

20 Las frases "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", como se utilizan en la presente, significan los modos de administración diferentes de la administración enteral y tópica, usualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, e intraesternal.

25 Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica", y "administrado periféricamente", como se utilizan en la presente, significan la administración de un compuesto, fármaco, u otro material, diferente de hacerlo directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entre al sistema del paciente y, por lo tanto, se someta al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.

30 Estos compuestos se pueden administrar a seres humanos y a otros animales para terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo oralmente, nasalmente, como por ejemplo, mediante un aerosol, rectalmente, intravaginalmente, parenteralmente, intracisternalmente, y tópicamente, mediante polvos, ungüentos o gotas, incluyendo bucalmente y sublingualmente.

35 Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, los cuales se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante los métodos convencionales conocidos por los expertos en este campo.

40 Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición, y modo de administración particulares, sin que sean tóxicos para el paciente.

45 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o del éster, sal, o amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción o el metabolismo del compuesto particular empleado, la velocidad y el grado de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos, y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, el sexo, el peso, la condición, la salud general y la historia médica previa del paciente que se esté tratando, y factores similares bien conocidos en el ámbito médico.

50 Un médico o veterinario que tenga una experiencia ordinaria en la materia puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica en niveles más bajos que los requeridos, con el objeto de lograr el efecto terapéutico deseado, y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logre el efecto deseado.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será la cantidad del compuesto que sea la dosis más baja efectiva para producir un efecto terapéutico. Esta dosis efectiva dependerá en general de los factores

descritos anteriormente. En términos generales, las dosis oral, intravenosa, intracerebro-ventricular y subcutánea de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utilicen para los efectos analgésicos indicados, estarán en el intervalo de aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal al día.

- 5 Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas por separado a intervalos apropiados a través de todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitaria.

Se pueden utilizar los parámetros farmacocinéticos (PK) in vivo para la estimación de los parámetros farmacocinéticos (PK) humanos. Aplicando diversos métodos conocidos en la técnica para la predicción de la farmacocinética (PK) humana, se puede estimar la eliminación humana predicha. Por ejemplo, se estimó que la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) es de 3 mililitros/minuto/ kilogramo, y el volumen de distribución se estimó en 1 litro/ kilogramo. La dosis diaria eficaz humana proyectada para el Ejemplo 9, por consiguiente, se estimó entre 90 y 130 miligramos al día.

15 Aunque es posible que un compuesto de la presente invención se administre solo, es preferible administrar el compuesto como una formulación (composición) farmacéutica.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden formular para su administración en cualquier forma conveniente para utilizarse en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros productos farmacéuticos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los presentes compuestos, como se describe anteriormente, formulados junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe con detalle más adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquéllas adaptadas para las siguientes: (1) administración oral, por ejemplo, líquidos (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), tabletas, bolos, polvos, gránulos, pastas para su aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o aspersión aplicada a la piel, pulmones, o membranas mucosas; o (4) intravaginalmente o intra-rectalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente o bucalmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; u (8) nasalmente.

El término "tratamiento" pretende abarcar también la profilaxis, terapia y curación.

30 El paciente que reciba este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluyendo primates, en particular, los seres humanos, y otros mamíferos, tales como equinos, reses, cerdos y ovejas; y aves de corral y mascotas en general.

La tecnología de microemulsión puede mejorar la biodisponibilidad de algunos agentes farmacéuticos lipofílicos (insolubles en agua). Los ejemplos incluyen Trimetrina (Dordunoo, S. K. y colaboradores, Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991 y REV 5901 (Sheen, P. C., y colaboradores, J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Entre otras cosas, la microemulsión proporciona una mejor biodisponibilidad al dirigir preferencialmente la absorción hacia el sistema linfático en lugar del sistema circulatorio, desviándose de esta manera del hígado, y previniendo la destrucción de los compuestos en la circulación hepatobiliar.

Aunque se contemplan todos los vehículos anfílicos adecuados, los vehículos actualmente preferidos son en términos generales aquéllos que tengan el estado de generalmente reconocidos como seguros (GRAS), y que puedan tanto solubilizar el compuesto de la presente invención como microemulsionarlo en una etapa posterior cuando la solución entre en contacto con una fase de agua compleja (tal como una encontrada en el tracto gastrointestinal humano). Usualmente, los ingredientes anfílicos que satisfacen estos requerimientos tienen valores de HLB (balance hidrofílico a lipofílico) de 2 a 20, y sus estructuras contienen radicales alifáticos de cadena recta en el intervalo de 6 a 20 átomos de carbono. Los ejemplos son los glicéridos grasos polietilenglicolizados y los polietilenglicoles.

Se contemplan en particular los vehículos anfílicos comercialmente disponibles, incluyendo la serie Gelucire, Labrafil, Labrasol, o Lauroglicol (todos elaborados y distribuidos por Gattefosse Corporation, Saint Priest, Francia), mono-oleato de PEG, di-oleato de PEG, mono-laurato y di-laurato de PEG, Lecitina, Polisorbato 80, etc. (producidos y distribuidos por un número de compañías en EUA y en todo el mundo).

Los polímeros hidrofílicos adecuados para utilizarse en la presente invención son aquéllos que sean fácilmente solubles en agua, que se puedan unir de una manera covalente a un lípido formador de vesículas, y que sea tolerados in vivo sin efectos tóxicos (es decir, que sean biocompatibles). Los polímeros adecuados incluyen

polietilenglicol (PEG), ácido poliláctico (también denominado como poliláctido), ácido poliglicólico (también denominado como poliglicólido), un copolímero de ácido poliláctico-poliglicólico, y poli-alcohol vinílico. Los polímeros preferidos son aquéllos que tienen un peso molecular de aproximadamente 100 ó 120 dáltones hasta aproximadamente 5,000 ó 10,000 dáltones, y de una manera más preferible de aproximadamente 300 dáltones a aproximadamente 5,000 dáltones. En una realización particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 5,000 dáltones, y de una manera más preferible que tiene un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 5,000 dáltones. En una realización particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol de 750 dáltones (PEG(750)). Los polímeros también se pueden definir por el número de monómeros en los mismos; una realización preferida de la presente invención utiliza polímeros de cuando menos aproximadamente 3 monómeros, tales como polímeros de PEG consistentes en tres monómeros (de aproximadamente 150 dáltones).

Otros polímeros hidrofílicos que pueden ser adecuados para utilizarse en la presente invención incluyen polivinil-pirrolidona, poli-metoxazolona, poli-etil-oxazolona, poli-hidroxi-propil-metacrilamida, poli-metacrilamida, poli-dimetil-acrilamida, y las celulosas derivadas, tales como hidroximetil-celulosa o hidroxietil-celulosa.

Una formulación puede comprender un polímero biocompatible seleccionado a partir del grupo que consiste en poliamidas, policarbonatos, polialquilenos, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, polímeros de polivinilo, poliglicólidos, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, celulosas, polipropileno, polietilenos, poliestireno, polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poli(ácido butírico), poli(ácido valérico), poli(láctido-co-caprolactona), polisacáridos, proteínas, poli-ácidos hialurónicos, poli-ciano-acrilatos, y mezclas o copolímeros de los mismos.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos, consistentes en 6, 7, u 8 unidades de glucosa, designadas por las letras griegas alfa, beta, o gamma, respectivamente. No se sabe que existan ciclodextrinas con menos de 6 unidades de glucosa. Las unidades de glucosa están enlazadas mediante enlaces alfa-1,4-glucosídicos. Como una consecuencia de la conformación de la cadena de las unidades de azúcar, todos los grupos hidroxilo secundario (en C-2, C-3) se localizan sobre un lado del anillo, mientras que todos los grupos hidroxilo primario en C-6 están situados sobre el otro lado. Como un resultado, las caras externas son hidrofílicas, haciendo que las ciclodextrinas sean solubles en agua. En contraste, las cavidades de las ciclodextrinas son hidrofóbicas, debido a que están revestidas por el hidrógeno de los átomos C-3 y C-5, y por los oxígenos tipo éter. Estas matrices permiten formar complejos con una variedad de compuestos relativamente hidrofóbicos, incluyendo, por ejemplo, compuestos esteroideos, tales como 17-beta-estradiol (ver, pro ejemplo, van Uden y colaboradores, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38:1-3-113 (1994)). La formación de complejo tiene lugar mediante interacciones de Van der Waals, y mediante la formación del enlace de hidrógeno. Para una revisión general de la química de las ciclodextrinas, ver Wenz, *Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 33:803-822 (1994).

Las propiedades fisicoquímicas de los derivados de ciclodextrina dependen mucho de la clase y del grado de sustitución. Por ejemplo, su solubilidad en agua está en el intervalo desde insoluble (por ejemplo, triacetil-beta-ciclodextrina) hasta 147 por ciento soluble (peso/volumen) (G-2-beta-ciclodextrina). En adición, son solubles en muchos solventes orgánicos. Las propiedades de las ciclodextrinas hacen posible controlar la solubilidad de diferentes componentes de la formulación mediante el aumento o la disminución de su solubilidad.

Se han descrito numerosas ciclodextrinas y los métodos para su preparación. Por ejemplo, Parmeter (I) y colaboradores (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,453,259), y Gramera y colaboradores (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,459,731), describieron las ciclodextrinas electroneutras. Otros derivados incluyen las ciclodextrinas con propiedades catiónicas [Parmeter (II), Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,453,257], las ciclodextrinas reticuladas insolubles (Sohms, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,420,788), y las ciclodextrina con propiedades aniónicas [Parmeter (III), Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,426,011]. Entre los derivados de ciclodextrina con propiedades aniónicas, se han adjuntado a la ciclodextrina progenitora los ácidos carboxílicos, ácidos fosforosos, ácidos fosfinosos, ácidos fosfónicos, ácidos fosfóricos, ácidos tiosfosfónicos, ácidos tiosulfínicos, y ácidos sulfónicos [ver Parmeter (III), supra]. Adicionalmente, los derivados de sulfoalquil-éter-ciclodextrina han sido descritos por Stella y colaboradores (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,134,217).

Los liposomas consisten en cuando menos una membrana de bicapa de lípido que encierra a un compartimiento interno acuoso. Los liposomas se pueden caracterizar por el tipo de membrana y por el tamaño. Las vesículas unilamelares pequeñas (SUVs) tienen una sola membrana, y típicamente están en el intervalo de entre 0.02 y 0.05 micras de diámetro; las vesículas unilamelares grandes (LUVs) son típicamente mayores de 0.05 micras. Las vesículas grandes oligolamelares y las vesículas multilamelares tienen múltiples capas de membrana, normalmente concéntricas, y son típicamente mayores de 0.1 micras. Los liposomas con varias membranas no concéntricas, es decir, varias vesículas más pequeñas contenidas dentro de una vesícula más grande, se denominan como vesículas multivesiculares.

Una divulgación se refiere a las formulaciones que comprenden liposomas, las cuales contienen un compuesto de la presente invención, en donde la membrana del liposoma se formula para proporcionar a un liposoma una mayor capacidad portadora. De una manera alternativa o en adición, el compuesto de la presente invención puede estar contenido dentro, o adsorbido sobre, la bicapa del liposoma. El compuesto de la presente invención se puede acumular con un tensoactivo de lípido, y puede ser portado dentro del espacio interno del liposoma; en estos casos, la membrana del liposoma se formula para resistir los efectos alteradores del agregado de agente activo-tensoactivo.

La bicapa de lípido de un liposoma contiene lípidos derivados con polietilenglicol (PEG), de tal manera que la cadena de PEG se extiende desde la superficie interna de la bicapa de lípido hacia el espacio interno encapsulado por el liposoma, y se extiende desde el exterior de la bicapa de lípido hasta el medio ambiente circundante.

Los agentes activos contenidos dentro de los liposomas de la presente invención están en una forma solubilizada. Los agregados de tensoactivo y agente activo (tales como emulsiones o micelios que contengan al agente activo de interés) se pueden atrapar dentro del espacio interno de los liposomas de acuerdo con la presente invención. Un tensoactivo actúa para dispersar y solubilizar al agente activo, y se puede seleccionar a partir de cualquier tensoactivo alifático, cicloalifático o aromático adecuado, incluyendo, pero no limitándose a, las lisofosfatidil-colinas (LPCS) biocompatibles de diferentes longitudes de cadena (por ejemplo, de aproximadamente 14 átomos de carbono a aproximadamente 20 átomos de carbono). También se pueden utilizar lípidos derivados de polímero, tales como lípidos de PEG, para la formación de los micelios, debido a que actuarán para inhibir la fusión del micelio/membrana, y debido a que la adición de un polímero a las moléculas de tensoactivo reduce la CMC del tensoactivo y ayuda a la formación del micelio. Se prefieren los tensoactivos con CMCs en el intervalo micromolar; se pueden utilizar tensoactivos con CMC más alta para preparar los micelios atrapados dentro de los liposomas de la presente invención; sin embargo, los monómeros del tensoactivo de micelios podrían afectar a la estabilidad de la bicapa del liposoma, y serían un factor en el diseño de un liposoma de una estabilidad deseada.

Los liposomas se pueden preparar mediante cualquiera de una variedad de técnicas conocidas en este campo. Ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,235,871; Solicitud del TCP Publicada Número WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), páginas 33-104; Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Ámsterdam, 1993.

Por ejemplo, los liposomas de la presente invención se pueden preparar mediante la difusión de un lípido derivado con un polímero hidrofílico en los liposomas preformados, tal como mediante la exposición de los liposomas preformados a los micelios compuestos de polímeros injertados con lípido, en concentraciones de lípido correspondientes al porcentaje molar final del lípido derivado que se desee en el liposoma. También se pueden formar liposomas que contengan un polímero hidrofílico mediante homogeneización, hidratación de campo de lípido, o técnicas de extrusión, como se conocen en este campo.

En un aspecto de la presente invención, los liposomas se preparan para tener tamaños sustancialmente homogéneos en un intervalo de tamaños seleccionado. Un método de dimensionamiento efectivo involucra extruir una suspensión acuosa de los liposomas a través de una serie de membranas de policarbonato que tengan un tamaño de poros uniforme seleccionado; el tamaño de poros de la membrana corresponderá aproximadamente con los tamaños más grandes de los liposomas producidos mediante la extrusión a través de esa membrana. Ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,737,323 (12 de abril de 1988).

Las características de liberación de una formulación de la presente invención dependen del material encapsulante, de la concentración del fármaco encapsulado, y de la presencia de modificadores de liberación. Por ejemplo, la liberación se puede manipular para ser dependiente del pH, por ejemplo utilizando un recubrimiento sensible al pH que se libere solamente en un bajo pH, como en el estómago, o en un pH más alto, como en el intestino. Se puede utilizar un recubrimiento entérico para evitar que ocurra la liberación hasta después de pasar a través del estómago. Se pueden utilizar múltiples recubrimientos o mezclas de cianamida encapsulada en diferentes materiales para obtener una liberación inicial en el estómago, seguida por una liberación posterior en el intestino. La liberación también se puede manipular mediante la inclusión de sales o agentes formadores de poros, los cuales pueden aumentar la absorción de agua o la liberación del fármaco mediante difusión desde la cápsula. También se pueden utilizar excipientes que modifiquen la solubilidad del fármaco para controlar la velocidad de liberación. También se pueden incorporar agentes que mejoren la degradación de la matriz o la liberación desde la matriz. Se pueden agregar al fármaco, se pueden agregar como una fase separada (es decir, como particulados), o se pueden co-disolver en la fase polimérica dependiendo del compuesto. En todos los casos, la cantidad debe ser de entre el 0.1 y el 30 por ciento (peso/peso de polímero). Los tipos de mejoradores de la degradación incluyen las sales inorgánicas, tales como sulfato de amonio y cloruro de amonio, los ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácido benzoico, y ácido ascórbico; las bases inorgánicas tales como carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de zinc, e hidróxido de zinc; y las bases orgánicas, tales como sulfato de protamina, espermina, colina, etanolamina, dietanolamina, y trietanolamina; y los tensoactivos, tales como Tween® y Pluronic®. Los agentes formadores de poros que agregan microestructura a las matrices (es decir, compuestos solubles en agua tales como sales inorgánicas y azúcares) se agregan como particulados. El intervalo debe estar entre el 1 y el 30 por ciento (peso/peso de polímero).

La absorción también se puede manipular mediante la alteración del tiempo de residencia de las partículas en el intestino. Esto se puede lograr, por ejemplo, recubriendo la partícula con, o seleccionando como el material encapsulante, un polímero adhesivo mucoso. Los ejemplos incluyen la mayoría de los polímeros con grupos carboxilo libres, tales como quitosano, celulosas, y en especial poliácridatos (como se utilizan en la presente, los poliácridatos se refieren a los polímeros que incluyen grupos acrilato y grupos acrilato modificados, tales como cianoacrilatos y metacrilatos).

Combinaciones Farmacéuticas

La invención en especial se refiere al uso de un compuesto de la fórmula (I) (o de una composición farmacéutica que comprenda un compuesto de la fórmula (I)) en el tratamiento de una o más de las enfermedades mencionadas en la presente; en donde la respuesta al tratamiento es benéfica como se demuestra, por ejemplo, by la eliminación parcial o completa de uno o más de los síntomas de la enfermedad hasta completar la curación o remisión.

La leucemia linfocítica aguda (ALL) positiva para el cromosoma Filadelfia (Ph+) cuenta por el 15 al 30 por ciento de la leucemia linfocítica aguda (ALL) de adultos y por hasta el 5 por ciento de la leucemia linfocítica aguda (ALL) pediátrica (Faderl S, Garcia-MANero gramos, Thomas D y colaboradores, Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia - Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6: 142-160). La Ph+ ALL pediátrica se caracteriza por una edad mayor (media de 9 a 10 años contra aproximadamente 4 años para todos los pacientes con leucemia linfocítica aguda (ALL)), y por conteos de glóbulos blancos sanguíneos (WBC) más altos en el diagnóstico. Tanto en los adultos como en los niños, la Ph+ ALL se caracteriza por una translocalización recíproca entre los cromosomas 9 y 22 (t(9;22)(q34;q11)) que da como resultado la fusión del gen BCR sobre el cromosoma 22 con las secuencias del gen ABL translocalizadas desde el cromosoma 9, lo cual da como resultado la expresión de la proteína de BCR-ABL1. Existen 2 variantes primarias de BCR-ABL1, p190BCR-ABL1, detectable en aproximadamente el 85 por ciento de los pacientes con Ph+ ALL, y p210 BCR-ABL1, típica de la leucemia mieloide crónica (CML), identificada en aproximadamente el 15 por ciento de los pacientes con Ph+ ALL (Dombret H, Galbert J, Boiron J y colaboradores, Outcome of Treatment in Adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia - Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. Blood 2002; 100:2 357-2366; Faderl S, Garcia-MANero G, Thomas D y colaboradores, Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia- Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6: 142-160).

El tratamiento de la leucemia linfocítica aguda (ALL) se basa en la clasificación de riesgo de cada paciente, con un tratamiento cada vez más intenso para los pacientes que estén en un riesgo más alto de tener recurrencia; esta estrategia maximiza los índices de remisión mientras que limita las toxicidades innecesarias. El progreso ha sido creciente, desde la introducción de la quimioterapia de combinación y el tratamiento para la leucemia del sistema nervioso central pre-sintomática, hasta los regímenes de tratamiento intensos más nuevos para los pacientes con un alto riesgo de recurrencia (C. H. Pui y W. E. Evans. Acute Lymphoblastic Leukemia New Engl J Med 1998;339:605-615). Antes del desarrollo del imatinib, los pacientes con Ph+ ALL se trataban con quimioterapia intensa seguida por trasplante de células madre hematopoiéticas (HSCT), idealmente con un donador relacionado coincidente, debido a que esto demostró que daba como resultado una mejor EFS contra cualquier trasplante de células madre hematopoiéticas (HSCT) con otros donadores o la quimioterapia sola. Sobre todo, y en contraste con la mayoría de los pacientes pediátricos con leucemia linfocítica aguda (ALL), los pacientes con Ph+ ALL han tenido un pronóstico fatal con bajos índices de supervivencia sin recaídas (EFS) (Arico M, Valsecchi M G, Camitta B, Schrappe M, Chessells J, Baruchel A, Gaynon P, Silverman L, Janka-Schaub G, Kamps W y colaboradores, New Engl J Med 2000; 342: 998-1006).

Las terapias existentes (tales como GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF®, ICLUSIGMR, y similares) se enlazan al sitio de enlace de ATP del dominio de cinasa. En contraste, los compuestos de la invención son potentes inhibidores de BCR-ABL1, ABL1 y ABL2 que se enlazan a un sitio sobre el dominio de cinasa que es distinto del sitio de enlace de ATP.

Por consiguiente, los compuestos de la invención con su novedoso mecanismo de acción aloestérico, se pueden utilizar como una terapia independiente o se pueden utilizar en secuencia o en combinación con las terapias existentes seleccionadas a partir de GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF® e ICLUSIGMR.

Como una terapia independiente, los compuestos de la invención se pueden utilizar para tratar las enfermedades y los trastornos relacionados con BCR-ABL1, ABL1 y ABL2. BCR-ABL1 puede ser de tipo silvestre o un BCR-ABL1 mutante seleccionado a partir de V299L, T315I, F317I/L, Y253F/H, E255K/V, y F359C/V. Los compuestos de la invención se podrían utilizar para tratar a los pacientes que no respondan a las terapias existentes como un resultado de las mutaciones que se presenten en el sitio de enlace de ATP. Como una terapia de combinación, los compuestos de la invención presentan una oportunidad única para tratar a los pacientes con leucemia Ph+ utilizando una combinación de dos potentes inhibidores mecánicamente distintos de Bcr-Abl. El planteamiento de la combinación en la clínica podría proporcionar a los pacientes una reducción más profunda y más sostenida en la carga tumoral, con un riesgo reducido de recurrencia.

5 Un animal de sangre caliente que tenga una leucemia seleccionada a partir de leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL), puede ser tratado el cual comprende administrar a dicho animal, una administración secuencial de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado de imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib.

El animal de sangre caliente es un ser humano (paciente).

El compuesto de la invención puede ser (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10 La dosis de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) puede ser de 90 a 130 miligramos.

La dosis de nilotinib puede ser de 10 a 50 miligramos/kilogramo, de Imatinib puede ser de 50 a 200 miligramos/kilogramo, de dasatinib puede ser de 5 a 20 miligramos/kilogramo, o de ponatinib puede ser de 2 a 10 miligramos/kilogramo.

La dosis de bosutinib puede ser de 500 miligramos.

15 Un animal de sangre caliente que tenga una leucemia seleccionada a partir de leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL), puede ser tratado lo que comprende administrar al animal, una administración simultánea de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado a partir de imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib.

20 El animal de sangre caliente puede ser un humano (paciente).

El compuesto de la invención puede ser (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

La dosis de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) puede ser de 90 a 130 miligramos.

25 La dosis de nilotinib es de 10 a 50 miligramos/kilogramo, de Imatinib puede ser de 50 a 200 miligramos/kilogramo, de dasatinib puede ser de 5 a 20 miligramos/kilogramo, o de ponatinib puede ser de 2 a 10 miligramos/kilogramo.

La dosis de bosutinib puede ser de 500 miligramos.

30 Un animal de sangre caliente que tenga una leucemia seleccionada a partir de leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL), puede ser tratado, lo que comprende administrar al animal, una administración simultánea de una cantidad terapéuticamente efectiva de una (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y una cantidad terapéuticamente efectiva de Nilotinib.

35 Un animal de sangre caliente que tenga una leucemia seleccionada a partir de leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL), se puede tratar lo que comprende administrar al animal, una administración simultánea de una cantidad terapéuticamente efectiva de una (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y una cantidad terapéuticamente efectiva de Nilotinib.

40 Un compuesto de la fórmula (I) también se puede utilizar en combinación con otros compuestos antineoplásicos. Estos compuestos incluyen, pero no se limitan a, los inhibidores de reductasa de ribonucleótido, inhibidores de topoisomerasa I; inhibidores de JAK, tales como ruxolitinib; inhibidores de smoothened, tales como LDE225; interferón; inhibidores de topoisomerasa II; compuestos activos en microtúbulos; compuestos alquilantes; inhibidores de desacetilasa de histona; inhibidores de mTOR, tales como RAD001; anti-metabolitos anti-neoplásicos; compuestos de platina; compuestos que dirigen/reducen una actividad de cinasa de proteína o de lípido, inhibidores de amino-peptidasa de metionina; modificadores de la respuesta biológica; inhibidores de las isoformas oncogénicas Ras; inhibidores de telomerasa; inhibidores de proteasoma; compuestos utilizados en el tratamiento de malignidades hematológicas, tales como fludarabina; compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de la cinasa C de proteína (PKC), tales como midostaurina; inhibidores de HSP90, tales como 17-AAG (17-alil-amino-geldanamicina, NSC330507), 17-DMAG (17-dimetil-amino-etil-amino-17-desmetoxi-geldanamicina, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 de Conforma Therapeutics, HSP990 y AUY922; temozolomida (TEMODAL®); inhibidores de

5 proteína de huso de cinesina, tales como SB715992 o SB743921 de GlaxoSmithKline, o pentamidina/clorpromazina de CombinatoRx; inhibidores de PI3K, tales como BEZ235, BKM120 o BYL719; inhibidores de MEK, tales como ARRY142886 de Array BioPharma, AZD6244 de AstraZeneca, PD181461 de Pfizer, leucovorina, Aglutinantes EDG, compuestos contra la leucemia, inhibidores de descarboxilasa de S-adenosil-metionina, anticuerpos anti-proliferativos, u otros compuestos quimioterapéuticos. Además, de una manera alternativa o en adición, se pueden utilizar en combinación con radiación ionizante. Además, de una manera alternativa o en adición, se pueden utilizar en combinación con inhibidores de JAK, tales como ruxolitinib.

Además, de una manera alternativa o en adición, se pueden utilizar en combinación con inhibidores de smoothened, tales como LDE225.

10 Además, de una manera alternativa o en adición, se pueden utilizar en combinación con interferón.

15 El término "inhibidores de reductasa de ribonucleótido" se refiere a los análogos de nucleósidos de pirimidina o purina incluyendo, pero no limitándose a, fludarabina y/o citosina-arabinosida (ara-C), 6-tioguanina, 5-fluoro-uracilo, cladribina, 6-mercapto-purina (en especial en combinación con ara-C contra ALL), clofarabina, nelarabina (un pro-fármaco de la 9-β-arabino-furanosil-guanina, ara-G), pentostatina, hidroxiurea o los derivados de 2-hidroxi-1H-isoindol-1,3-diona (Nandy y colaboradores, Acta Oncologica 1994; 33: 953-961).

20 El término "inhibidor de topoisomerasa I", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, topotecano, gimatecano, irinotecano, camptotecina y sus análogos, 9-nitro-camptotecina y el conjugado de camptotecina macromolecular PNU-166148 (Compuesto A1 de la Publicación Internacional Número WO99/ 17804). El irinotecano se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada CAMPTOSAR. El topotecano se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada HYCAMTIN.

25 El término "inhibidor de topoisomerasa II", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, las antraciclinas, tales como doxorrubicina (incluyendo la formulación liposomal, por ejemplo, CAELYX), daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina y nemorrubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etoposida, y teniposida. La etoposida se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ETOPOPHOS. La teniposida se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada VM 26-BRISTOL. La doxorrubicina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ADRIBLASTIN o ADRIAMYCIN. La epirubicina se puede administrar, en la forma como se comercia, bajo la marca comercial registrada FARMORUBICIN. La idarrubicina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ZAVEDOS. La mitoxantrona se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada NOVANTRON.

35 El término "compuesto activo en microtúbulos" se refiere a los compuestos estabilizantes de microtúbulos y desestabilizantes de microtúbulos, y a los inhibidores de la polimerización de microtubulina, incluyendo, pero no limitándose a, taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel, alcaloides vinca, por ejemplo, vinblastina, en especial sulfato de vinblastina, vincristina, en especial sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas, colquicina, y epotilonas y los derivados de las mismas, por ejemplo, epotilona B o D o derivados de las mismas. El paclitaxel se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, TAXOL. El docetaxel se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada TAXOTERE. El sulfato de vinblastina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada VINBLASTIN R.P. El sulfato de vincristina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada FARMISTIN. La discodermolida se puede obtener, por ejemplo, como se da a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5,010,099. También se incluyen los derivados de epotilona que se dan a conocer en las Patentes Números WO 45 98/10121, US 6,194,181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 y WO 00/31247. Se prefieren en especial Epotilona A y/o B.

50 El término "compuesto alquilante", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalano o nitrosourea (BCNU o Gliadel). La ciclofosfamida se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada CICLOSTIN. La ifosfamida se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada HOLOXAN.

55 El término "inhibidores de desacetilasa de histona" o "inhibidores de HDAC" se refiere a los compuestos que inhiben la desacetilasa de histona y que poseen una actividad anti-proliferativa. Esto incluye a los compuestos tales como LDH589 que se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO 02/22577, en especial la N-hidroxi-3-[4-[[[(2-hidroxi-etil)[2-(1H-indol-3-il)-etil]amino]metil]fenil]2E-2-propenamida, la N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]amino]metil]fenil]2E-2-propenamida, y las sales farmacéuticamente aceptables de las mismas. Además incluye en especial al ácido hidroxámico de suberoil-anilida (SAHA).

- 5 El término "anti-metabolito anti-neoplásico" incluye, pero no se limita a, 5-fluoro-uracilo o 5-FU, capecitabina, gemcitabina, compuestos desmetilantes del ADN, tales como 5-azacitidina y decitabina, metotrexato y edatrexato, y antagonistas del ácido fólico, tales como pemetrexed. La capecitabina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada XELODA. La gemcitabina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada GEMZAR.
- El término "compuesto de platina", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, carboplatina, cisplatina, cisplatino y oxaliplatina. La carboplatina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada CARBOPLAT. La oxaliplatina se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercia, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ELOXATIN.
- 10 El término "compuestos que dirigen/reducen una actividad de cinasa de proteína o de lípido"; o una "actividad de fosfatasa de proteína o de lípido", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, los inhibidores de cinasa de tirosina de las proteínas y/o de cinasa de serina y/o treonina, o los inhibidores de cinasa de lípido, por ejemplo:
- 15 a) los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de los miembros de la familia ABL1, sus productos de fusión genética (por ejemplo, cinasa BCR-ABL1), y sus mutantes, tales como los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de los miembros de la familia ABL1 y sus productos de fusión genética, por ejemplo, imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib, bafetinib, PD180970, AG957, NSC 680410 y PD173955;
- 20 b) los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de los miembros de la cinasa C de proteína (PKC), y la familia de cinasas de serina/treonina Raf, los miembros de la familia MEK, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, y Ras/MAPK, y/o los miembros de la familia de cinasa dependiente de ciclina (CDK), y son en especial los derivados de estaurosporina que se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5,093,330, por ejemplo, midostaurina; los ejemplos de compuestos adicionales incluyen, por ejemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Briostatina 1, Perifosina; Ilmofosina; RO 318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; compuestos de isoquinolina, tales como aquéllos que se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO 00/09495; FTIs; BEZ235 (un inhibidor de P13K) o AT7519 (inhibidor de CDK);
- 25 El término "inhibidores de mTOR" se refiere a los compuestos que inhiben al objetivo de mamífero de rapamicina (mTOR), y que poseen una actividad anti-proliferativa, tales como sirolimus (Rapamune®), everolimus (Certican^{MR}), CCI-779 y ABT578.
- 30 El término "modificador de la respuesta biológica", como se utiliza en la presente, se refiere a una lincocina o interferones, por ejemplo, interferón γ .
- El término "inhibidor de las isoformas oncogénicas Ras", por ejemplo, H-Ras, K-Ras, o N-Ras, como se utiliza en la presente, se refiere a los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad oncogénica de Ras, por ejemplo, un "inhibidor de farnesil-transferasa", por ejemplo, L-744832, DK8G557 o R115777 (Zarnestra).
- 35 El término "inhibidor de telomerasa", como se utiliza en la presente, se refiere a los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de la telomerasa. Los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de la telomerasa son en especial los compuestos que inhiben al receptor de telomerasa, por ejemplo, telomestatina.
- 40 El término "inhibidor de amino-peptidasa de metionina", como se utiliza en la presente, se refiere a los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de la amino-peptidasa de metionina. Los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de la amino-peptidasa de metionina son, por ejemplo, bengamida o un derivado de la misma.
- El término "inhibidor de proteasoma", como se utiliza en la presente, se refiere a los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad del proteasoma. Los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad del proteasoma incluyen, por ejemplo, Bortezomid (Velcade^{MR}) y MLN 341.
- 45 El término "inhibidores de HSP90", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad intrínseca de ATPasa de HSP90; que degradan, dirigen, reducen, o inhiben las proteínas clientes de HSP90 por medio de la senda del proteasoma de ubiquitina. Los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad intrínseca de ATPasa de HSP90 son en especial los compuestos, proteínas o los anticuerpos que inhiben la actividad de ATPasa de HSP90, por ejemplo, 17-alil-amino,17-desmetoxi-geldanamicina (17AAG), un derivado de geldanamicina; otros compuestos relacionados con geldanamicina; radicicol e inhibidores
- 50 de desacetilasa de histona. Los inhibidores de HSP90 de ejemplo son HSP990 y AU922.
- Para el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML), los compuestos de la fórmula (I) se pueden utilizar en combinación con terapias para leucemia convencionales, en especial en combinación con terapias utilizadas para el

tratamiento de leucemia mieloblástica aguda (AML). En particular, los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar en combinación con, por ejemplo, los inhibidores de farnesil-transferasa y/u otros fármacos útiles para el tratamiento de leucemia mieloblástica aguda (AML), tales como Daunorrubicina, Adriamicina, Ara-C, VP-16, Teniposida, Mitoxantrona, Idarrubicina, Carboplatino, y PKC412.

- 5 Los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad de los inhibidores de la desacetilasa de histona (HDAC), tales como butirato de sodio y ácido hidroxámico de suberoil-anilida (SAHA), inhiben la actividad de las enzimas conocidas como desacetilasas de histona. Los inhibidores de desacetilasa de histona específicos incluyen MS275, SAHA, FK228 (anteriormente FR901228), tricostatina A, y los compuestos que se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 6,552,065, en particular, la N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]amino]metil]fenil]2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y la N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-hidroxi-etil)-(1H-indol-3-il)-etil]amino]metil]fenil]2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en especial la sal de lactato.

- 15 Los planteamientos que dañan las células tumorales se refieren a los planteamientos tales como radiación ionizante. El término "radiación ionizante", referido anteriormente y más adelante en la presente, significa la radiación ionizante que se presenta como rayos electromagnéticos (tales como rayos-X y rayos gamma), o bien como partículas (tales como partículas alfa y beta). La radiación ionizante se proporciona en, pero no limitándose a, terapia de radiación, y se conoce en este campo. Véase Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, en Principles and Practice of Oncology, Devita y colaboradores, Editores, 4a. Edición, Volumen 1, páginas 248-275 (1993).

- 20 El término "inhibidores de descarboxilasa de S-adenosil-metionina", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, los compuestos que se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5,461,076.

- 25 "Otros compuestos quimioterapéuticos" incluyen, pero no se limitan a, alcaloides de plantas, los compuestos y antagonistas hormonales; modificadores de la respuesta biológica, de preferencia linfocinas o interferones; oligonucleótidos anti-sentido o derivados de los oligonucleótidos; shARN o siARN; o compuestos diversos, o los compuestos con un mecanismo de acción diferente o desconocido.

La estructura de los compuestos activos identificados por números de código, nombres genéricos o comerciales, se puede tomar de la edición actual del compendio estándar "The Merck Index" o de las bases de datos, por ejemplo, Patents International (por ejemplo, IMS World Publications).

- 30 Ninguna de las citas de referencias hechas dentro de la presente descripción debe entenderse como una admisión de que las referencias citadas sean técnica anterior que pudiera afectar negativamente a la patentabilidad de la presente invención.

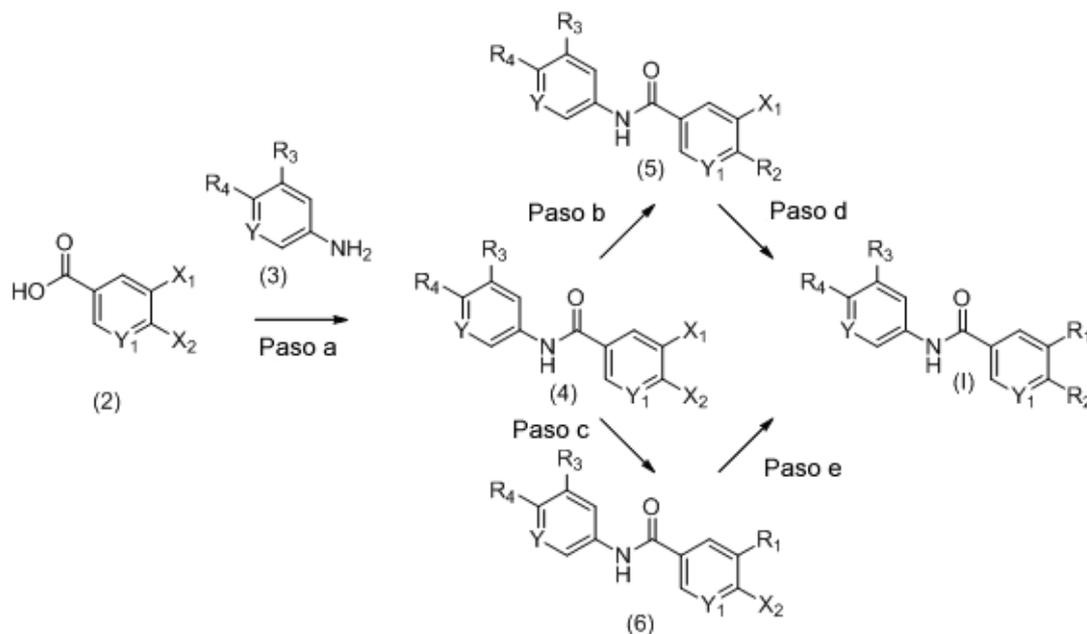
Procesos para la elaboración de los compuestos de la invención

- 35 La presente invención también incluye procesos para la preparación de los compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger a los grupos funcionales reactivos, por ejemplo, los grupos hidroxilo, amino, imino, tio, o carboxilo, en donde se deseen éstos en el producto final, para evitar su participación indeseada en las reacciones. Se pueden utilizar los grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

- 40 Cuando se dan temperaturas anteriormente en la presente o más adelante en la presente, se debe agregar "aproximadamente", debido a que son tolerables las desviaciones menores de los valores numéricos dados, por ejemplo, las variaciones de +10 por ciento. Todas las reacciones pueden tener lugar en la presencia de uno o más diluyentes y/o solventes. Los materiales de partida se pueden utilizar en cantidades equimolares; de una manera alternativa, un compuesto se puede utilizar en exceso, por ejemplo, para funcionar como un solvente o para cambiar el equilibrio o, en términos generales para acelerar las velocidades de reacción. Se pueden agregar auxiliares de reacción, tales como ácidos, bases o catalizadores en las cantidades adecuadas, como se conocen en el campo, 45 requeridas por una reacción y en línea con los procedimientos generalmente conocidos.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción I:

Esquema de Reacción I:



en donde Y, Y₁, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen para la fórmula (I), en la Breve Descripción de la Invención, y X₁ y X₂ representan átomos de halógeno, X₁ se puede seleccionar a partir de cloro, bromo, o yodo, y X₂ se puede seleccionar a partir de cloro o flúor.

Paso a: Un compuesto de la fórmula (4) se puede preparar mediante la reacción del cloruro de ácido a partir de un compuesto de la fórmula (2) con un compuesto de la fórmula (3), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), o similares), y una base orgánica (por ejemplo, di-isopropil-etil-amina, o similares). La reacción tiene lugar de aproximadamente 0°C a aproximadamente la temperatura ambiente y puede tomar hasta aproximadamente 2 horas para completarse.

El cloruro del ácido de un compuesto de la fórmula (2) se puede preparar con un agente clorador (por ejemplo, cloruro de tionilo, o cloruro de oxalilo, o similares), en la presencia de un catalizador (por ejemplo, N,N-dimetil-formamida, o similares), y un solvente adecuado (por ejemplo, tolueno, o similares). La reacción tiene lugar a aproximadamente la temperatura ambiente o mediante calentamiento a aproximadamente 85°C, y puede tomar hasta aproximadamente 2 horas para completarse.

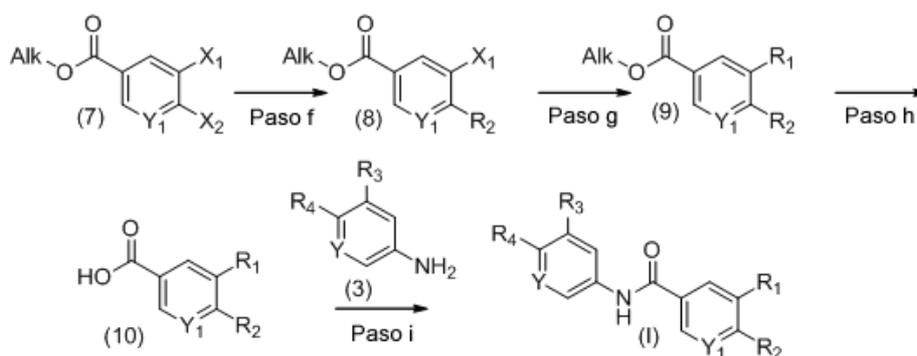
Paso b: Un compuesto de la fórmula (5) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (4) con R₂-H, en donde R₂ es como se define en la Breve Descripción de la Invención, en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, 2-propanol, o sulfóxido de dimetilo (DMSO), o similares), y una base orgánica adecuada (por ejemplo, di-isopropil-etil-amina, o trietil-amina, o similares). La reacción tiene lugar de aproximadamente 90°C a aproximadamente 140°C, y puede tomar de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 72 horas para completarse.

Paso c: Un compuesto de la fórmula (6) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (4), siendo X₁ de preferencia bromo o yodo, con R₁-Z₁, en donde R₁ es como se define en la presente, Z₁ que es de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, dimetoxi-etano, o una mezcla de dimetoxi-etano y agua, o similares), una base inorgánica adecuada (por ejemplo, carbonato de sodio, o similares), y un catalizador de paladio (por ejemplo, dicloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II), o un complejo de dicloruro de 1,1'-bis-(difeníl-fosfina)-ferroceno-paladio(II) / dicloro-metano (DCM), o tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0), o similares), y opcionalmente un cosolvente (por ejemplo, etanol, o similares). La reacción tiene lugar de aproximadamente 80°C a aproximadamente 130°C, y puede tomar de aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 18 horas, para completarse.

De una manera alternativa, el paso c se puede presentar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (4), siendo X₁ de preferencia bromo o yodo, con R₁-Z₂, en donde R₁ es como se define en la presente, Z₂ que es de preferencia un reactivo de trialquil-estano (reacción de Stille), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, sulfóxido de dimetilo (DMSO), o similares), y un catalizador de paladio (por ejemplo, tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0)). La reacción tiene lugar a aproximadamente 140°C, y puede tomar hasta aproximadamente 18 horas, para completarse.

- Paso d: Un compuesto de la fórmula (I) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (5), siendo X_1 de preferencia bromo o yodo, con R_1-Z_1 , en donde R_1 es como se define en la presente, siendo Z_1 de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, dimetoxi-etano, o una mezcla de dimetoxi-etano y agua, o similares), una base inorgánica (por ejemplo, carbonato de sodio, o similares), y un catalizador de paladio (por ejemplo, dicloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II), o complejo de dicloruro de 1,1'-bis-(difeníl-fosfino)-ferroceno-paladio(II) / dicloro-metano (DCM), o tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0), o similares), y opcionalmente un cosolvente (por ejemplo, etanol, o similares). La reacción tiene lugar a aproximadamente 80-130°C y puede tomar hasta de aproximadamente 20 minutos a 2 horas para completarse.
- 5
- 10 Paso e: Un compuesto de la fórmula (I) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (6) con R_2-H , en donde R_2 es como se define en la presente, en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, 2-propanol, o sulfóxido de dimetilo (DMSO), o similares), una base orgánica (por ejemplo, di-isopropil-etil-amina, o trietil-amina, o similares). La reacción tiene lugar a aproximadamente 90-140°C y puede tomar hasta de aproximadamente 30 minutos a 72 horas para completarse.
- 15 Los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción II:

Esquema de Reacción II:



- en donde Y , Y_1 , R_1 , R_2 , R_3 y R_4 son como se definen para la fórmula (I), en la Breve Descripción de la Invención, y X_1 y X_2 representan átomos de halógeno, X_1 en particular cloro, bromo, o yodo, X_2 en particular cloro o flúor, y alk es una cadena de alquilo inferior, en particular metilo.
- 20

Paso f: Un compuesto de la fórmula (8) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (7) con R_2-H , en donde R_2 es como se define en la presente, en analogía al Paso b.

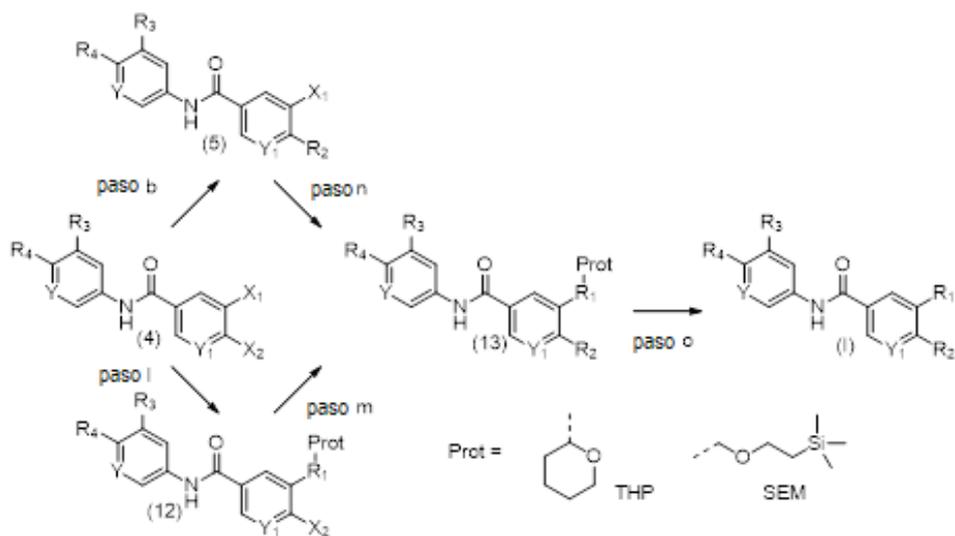
- Paso g: Un compuesto de la fórmula (9) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (8), siendo X_1 de preferencia bromo o yodo, con R_1-Z_1 , en donde R_1 es como se define en la presente, siendo Z_1 de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), en analogía al Paso d.
- 25

Paso h: Un compuesto de la fórmula (10) se puede preparar mediante la hidrólisis del éster de un compuesto de la fórmula (9), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, agua, o similares), una base inorgánica (por ejemplo, hidróxido de sodio, o similares). La reacción tiene lugar a temperatura ambiente y puede tomar hasta aproximadamente 2 horas para completarse.

- Paso i: Un compuesto de la fórmula (I) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (10) con un compuesto de la fórmula (3), en la presencia de un reactivo de acoplamiento (tal como clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida e hidroxibenzotriazol, o similares), una base adecuada (tal como N-metil-morfolina, di-isopropil-etil-amina, o similares), y un solvente adecuado (tal como dicloro-metano (DCM), N,N-dimetil-formamida, o similares). La reacción tiene lugar a temperatura ambiente, y puede tomar hasta aproximadamente 12 horas para completarse.
- 30
- 35

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción III:

Esquema de Reacción III:



5 en donde Y, Y₁, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen para la fórmula (I), en la Breve Descripción de la Invención, y X₁ y X₂ representan átomos de halógeno, X₁ en particular cloro, bromo, o yodo, X₂ en particular cloro o flúor, Prot representa un grupo protector, en particular tetrahidro-2H-piran-2-ilo (THP) o 2-(trimetil-silil)-etoxi]metilo (SEM), cuando R₁ es pirazol con NH libre.

Paso l: Un compuesto de la fórmula (12) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (4) con Prot-R₁-Z₁, en donde R₁ es como se define en la presente, siendo Z₁ de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), Prot es en particular THP o SEM, en analogía al Paso c.

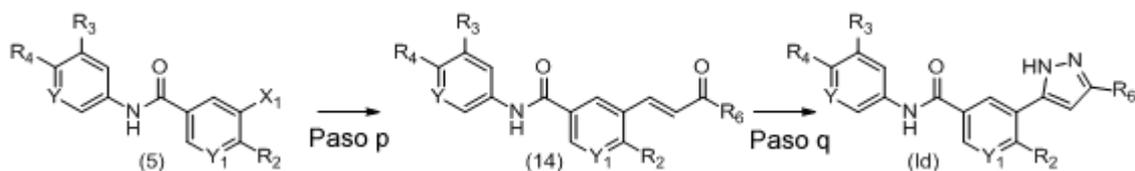
10 Paso m: Un compuesto de la fórmula (13) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (12) con R₂-H, en donde R₂ es como se define en la presente, en analogía al Paso e.

Paso n: Un compuesto de la fórmula (13) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (5) con Prot-R₁-Z₁, en donde R₁ es como se define en la presente, siendo Z₁ de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), Prot es en particular THP o SEM, en analogía al Paso d.

15 Paso o: Un compuesto de la fórmula (I) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (13) con un agente de desprotección (por ejemplo, fluoruro de tetra-n-butil-amonio, o ácido trifluoro-acético, o ácido clorhídrico, o similares), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), o dicloro-metano (DCM), o similares). La reacción tiene lugar a temperatura ambiente o a aproximadamente 80°C, y puede tomar hasta de aproximadamente 2 a 24 horas, para completarse.

20 Los compuestos de la fórmula (I), en donde R₁ es un pirazol sustituido por un grupo R₆, se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción IV:

Esquema de Reacción IV:



25 en donde Y, Y₁, R₂, R₃, R₄ y R₆ son como se definen para la fórmula (I), en la Breve Descripción de la Invención, y X₁ representa un átomo de halógeno, en particular bromo, o yodo, y R₆ que es alquilo inferior, en particular metilo.

Paso p: Un compuesto de la fórmula (14) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (5) con una alquil-vinil-cetona (por ejemplo, metil-vinil-cetona, o similares), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, N,N-dimetil-formamida, o similares), una base orgánica (por ejemplo, trietil-amina, o similares), y un

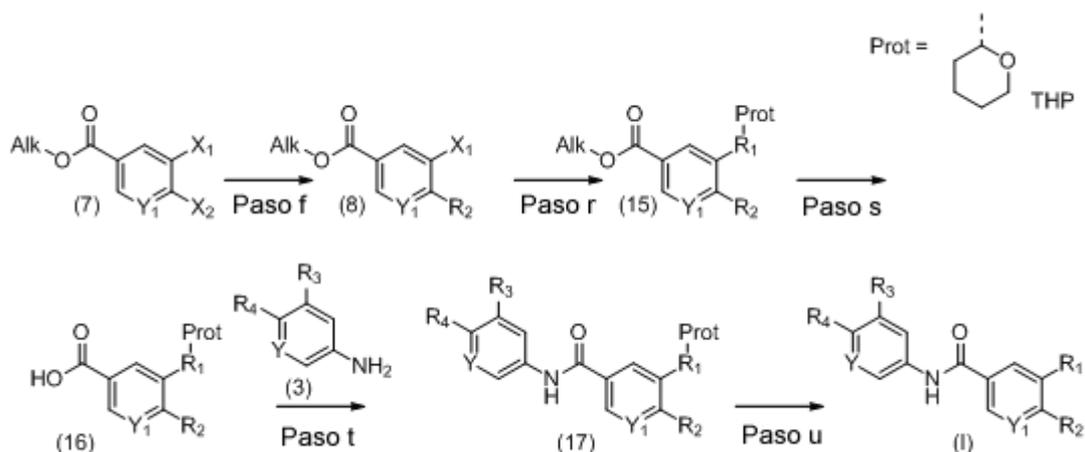
catalizador de paladio (por ejemplo, diacetato de tri-*o*-tolil-fosfina-paladio, o similares). La reacción tiene lugar a aproximadamente 130°C, y puede tomar hasta 16 horas para completarse.

5 Paso q: Un compuesto de la fórmula (Id) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (14), mediante la reacción con una hidrazida protegida (por ejemplo, hidrazida de ácido toluen-4-sulfónico, o similares), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, etanol, o similares), la reacción tiene lugar a aproximadamente 80°C y puede tomar hasta 2 horas para completarse. Entonces el grupo protector se remueve in situ con un alcoholato (por ejemplo, metóxido de sodio, o similares). La desprotección tiene lugar a aproximadamente 80°C, y puede tomar hasta 48 horas para completarse.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción V:

10

Esquema de Reacción V:



15

en donde Y, Y₁, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen para la fórmula (I), en la Breve Descripción de la Invención, X₁ y X₂ representan átomos de halógeno, X₁ en particular cloro, bromo, o yodo, X₂ en particular cloro o flúor, y alk es una cadena de alquilo inferior, en particular metilo, Prot representa un grupo protector, en particular tetrahydro-2H-piran-2-ilo (THP), cuando R₁ es pirazol con NH libre.

20

Paso r: Un compuesto de la fórmula (15) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (8), siendo X₁ de preferencia bromo o yodo, con Prot-R₁-Z₁, en donde R₁ es como se define en la presente, Prot es en particular tetrahydro-2H-piran-2-ilo (THP), cuando R₁ es pirazol con NH libre, siendo Z₁ de preferencia un ácido o éster borónico (reacción de Suzuki), en analogía al Paso d.

25

Paso s: Un compuesto de la fórmula (16) se puede preparar mediante la hidrólisis del éster de un compuesto de la fórmula (15), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, agua y metanol (MeOH), o similares), una base inorgánica (por ejemplo, hidróxido de sodio, o similares). La reacción tiene lugar a temperatura ambiente, y puede tomar hasta aproximadamente 14 horas para completarse.

Paso t: Un compuesto de la fórmula (17) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto (16) con un compuesto de la fórmula (3), en la presencia de un reactivo de acoplamiento (tal como clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida e hidroxibenzotriazol, o similares), una base adecuada (tal como N-metil-morfolina, o similares), y un solvente adecuado (tal como tetrahydrofurano (THF), o similares). La reacción tiene lugar a aproximadamente 25-65°C, y puede tomar hasta aproximadamente 2 días para completarse.

30

Paso u: Un compuesto de la fórmula (I) se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (17) con un agente de desprotección (por ejemplo, ácido clorhídrico, o similares), en la presencia de un solvente adecuado (por ejemplo, tetrahydrofurano (THF) y metanol (MeOH), o similares). La reacción tiene lugar a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas para completarse.

Los ejemplos detallados de la síntesis de los compuestos de la fórmula (I) se pueden encontrar en los Ejemplos más adelante.

35

Procesos adicionales para la elaboración de los compuestos de la invención

Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, mediante la reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. De una manera alternativa, se puede preparar una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención mediante la reacción de la forma del ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden modificar adjuntando las funcionalidades apropiadas para mejorar las propiedades biológicas selectivas. Las modificaciones de esta clase se conocen en la técnica, e incluyen aquéllas que aumentan la penetración en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central, testículos), aumentan la biodisponibilidad, aumentan la solubilidad para permitir la administración parenteral (por ejemplo, inyección, infusión), alteran el metabolismo y/o alteran la velocidad de secreción. Los ejemplos de este tipo de modificaciones incluyen, pero no se limitan a, esterificación, por ejemplo, con polietilenglicoles, derivación con pivaloiloxilo o sustituyentes de ácidos grasos, conversión hasta carbamatos, hidroxilación de los anillos aromáticos, y sustitución de heteroátomos en anillos aromáticos. Siempre que se mencionen los compuestos de la fórmula (I) y/o los N-óxidos, tautómeros y/o las sales de los mismos (de preferencia farmacéuticamente aceptables), esto comprende las fórmulas modificadas, mientras que, de preferencia, se refieren a las moléculas de la fórmula (I), sus N-óxidos, sus tautómeros y/o sus sales.

De una manera alternativa, las formas de sal de los compuestos de la invención se pueden preparar utilizando sales de los materiales de partida o intermediarios. En vista de la estrecha relación entre los compuestos novedosos de la fórmula (I) en forma libre y aquéllos en la forma de sus sales, incluyendo las sales que se pueden utilizar como intermediarios, por ejemplo, en la purificación o identificación de los compuestos novedosos, cualquier referencia a los compuestos o un compuesto de la fórmula (I) anteriormente en la presente y posteriormente en la presente, se debe entender para referirse al compuesto en forma libre y/o también a una o más sales de los mismos, como sea apropiado y conveniente, así como a uno o más solvatos, por ejemplo, hidratos.

Las sales se forman, por ejemplo, como las sales de adición de ácido, de preferencia con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de los compuestos de la fórmula (I), con un átomo de nitrógeno básico, en especial las sales farmacéuticamente aceptables. Los ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos de halógeno, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos carboxílicos, fosfónicos, sulfónicos o sulfámicos, por ejemplo, el ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido malónico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroxi-maleico, ácido metil-maleico, ácido ciclo-hexan-carboxílico, ácido adamantan-carboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido ftálico, ácido fenil-acético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metan- o etan-sulfónico, ácido 2-hidroxi-etan-sulfónico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido bencen-sulfónico, ácido 4-toluen-sulfónico, ácido 2-naftalen-sulfónico, ácido 1,5-naftalen-disulfónico, ácido 2- o 3-metil-bencen-sulfónico, ácido metil-sulfúrico, ácido etil-sulfúrico, ácido dodecil-sulfúrico, ácido N-ciclohexil-sulfámico, ácido N-metil-, N-etil- o N-propil-sulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tales como ácido ascórbico. Las sales usualmente se pueden convertir hasta los compuestos libres, por ejemplo, mediante el tratamiento con compuestos básicos adecuados, por ejemplo, con carbonatos de metales alcalinos, carbonatos ácidos de metales alcalinos, o hidróxidos de metales alcalinos, típicamente carbonato de potasio o hidróxido de sodio.

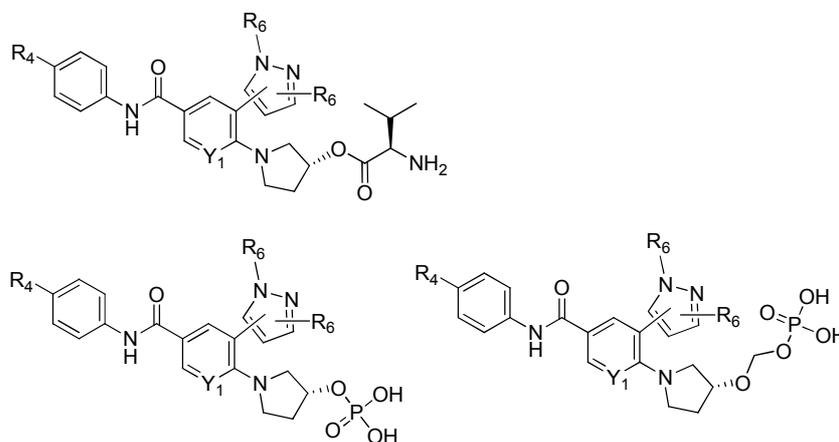
Para los propósitos de aislamiento o purificación, también es posible utilizar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo, picratos o percloratos. Para uso terapéutico, solamente se emplean las sales farmacéuticamente aceptables o los compuestos libres (donde sea aplicable, en la forma de preparaciones farmacéuticas) y, por consiguiente, éstas son las preferidas.

Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la forma de sal de adición de base o de sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir hasta la base libre correspondiente mediante el tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, una solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares). Un compuesto de la invención, en una forma de sal de adición de base se puede convertir hasta el ácido libre correspondiente mediante el tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

Los compuestos de la invención, en una forma no oxidada, se pueden preparar a partir de los N-óxidos de los compuestos de la invención, mediante el tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenil-fosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares), en un solvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso, o similares) de 0°C a 80°C.

Los derivados de pro-fármaco de los compuestos de la invención se pueden preparar mediante los métodos conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en la materia (por ejemplo, para mayores detalles, véase Saulnier MG, Langley DR, Kadow JF, Senter PD, Knipe JO, Tun MM, Vyas DM y Doyle TW (1994) Synthesis of

etoposide phosphate, BMY-4048 1: a watersoluble clinically active prodrug of etoposide. *Bioorg Med Chem Lett* 4: 2567-2572; y Rautio J, Kumpulainen H, Heimbach T, Oliyai R, Oh D, Järvinen T y Savolainen J (2008); *Prodrugs: design and clinical applications. Nat Rev Drug Discov.* 7: 255-70). Por ejemplo, un compuesto de la invención puede formar un éster de fosfato de un grupo hidroxilo. De una manera más específica, un compuesto de la invención puede formar un pro-fármaco como se muestra:



Además, un compuesto de la invención puede ser un pro-fármaco de otro compuesto de la invención. Para ilustrar, el Ejemplo 36 es un pro-fármaco del Ejemplo 37, y el Ejemplo 37 es un metabolito potencial del Ejemplo 36.

Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden hacer por medios conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en este campo. Si se protegen o se necesita proteger uno o más grupos funcionales diferentes, por ejemplo, carboxilo, hidroxilo, amino, sulfhidrilo o similares, en un material de partida como se describe en la presente, o en cualquier otro precursor, debido a que no deban tomar parte en la reacción o no deban alterar la reacción, éstos son los grupos que se utilizan usualmente en la síntesis de los compuestos peptídicos, y también de cefalosporinas y penicilinas, así como de los derivados de ácidos nucleicos y azúcares. Los grupos protectores son los grupos que ya no están presentes en los compuestos finales una vez que se remueven, mientras que los grupos que permanecen como sustituyentes no son grupos protectores en el sentido utilizado en la presente, los cuales son grupos que se agregan a un material de partida o en una etapa intermedia, y se remueven para obtener un compuesto final. También en el caso de las conversiones de un compuesto de la fórmula (I), en un compuesto diferente de la fórmula (I), se pueden introducir y remover los grupos protectores, si esto es útil o se requiere. Los grupos protectores pueden ya estar presentes en los precursores y deben proteger a los grupos funcionales concernidos contra las reacciones secundarias indeseadas, tales como acilaciones, eterificaciones, esterificaciones, oxidaciones, solvólisis, y reacciones similares. Es una característica de los grupos protectores que se prestan fácilmente, es decir, sin reacciones secundarias indeseadas, a la remoción, típicamente mediante acetólisis, protonólisis, solvólisis, reducción, fotólisis, o también mediante la actividad enzimática, por ejemplo, bajo condiciones análogas a las condiciones fisiológicas, y que no están presentes en los productos finales. El especialista sabe, o puede establecer fácilmente, cuáles grupos protectores son adecuados con las reacciones mencionadas anteriormente y más adelante.

La protección de estos grupos funcionales mediante tales grupos protectores, los grupos protectores mismos, y sus reacciones de remoción se describen, por ejemplo, en los trabajos de referencia convencionales, tales como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, Wiley, Nueva York 1999, en "The Peptides"; Volumen 3 (Editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "Methoden der organischen Chemie" (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4a Edición, Volumen 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Aminoácidos, péptidos, proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basilea 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Química de carbohidratos: monosacáridos y derivados), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar, o formar, durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar mediante recristalización a partir de una mezcla de solventes acuosos/orgánicos, utilizando solventes orgánicos, tales como dioxina, tetrahidrofurano (THF) o metanol.

Los compuestos de la invención se pueden preparar como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diaestereoisoméricos, se separan los diaestereómeros, y se recuperan los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de los enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diaestereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diaestereoméricas cristalinas). Los diaestereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.), y se pueden separar fácilmente aprovechando estas diferencias. Por ejemplo, las mezclas diaestereoméricas se pueden separar en sus diaestereómeros individuales por medio de cristalización fraccionaria, cromatografía, distribución de solvente, y procedimientos similares. Esta separación puede tener lugar ya sea al nivel de un compuesto de partida, o bien en un compuesto de la fórmula (I) mismo. Los enantiómeros se pueden separar a través de la formación de sales diaestereoméricas, por ejemplo, mediante la formación de sal con un ácido quirál puro en enantiómeros, o por medio de cromatografía, por ejemplo, mediante HPLC, utilizando sustratos cromatográficos con ligandos quirales. Entonces se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no dé como resultado la racemización. Se puede encontrar una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

En resumen, los compuestos de la fórmula (I) se puede hacer mediante un proceso que involucra:

- (a) aquéllos de los esquemas de reacción I-V; y
- (b) opcionalmente convertir un compuesto de la invención, en una sal farmacéuticamente aceptable;
- (c) opcionalmente convertir una forma de sal de un compuesto de la invención hasta una forma no de sal;
- (d) opcionalmente convertir una forma no oxidada de un compuesto de la invención hasta un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
- (e) opcionalmente convertir una forma de N-óxido de un compuesto de la invención hasta su forma no oxidada;
- (f) opcionalmente resolver un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;
- (g) opcionalmente convertir un compuesto no derivado de la invención hasta un derivado de pro-fármaco farmacéuticamente aceptable; y
- (h) opcionalmente convertir un derivado de pro-fármaco de un compuesto de la invención hasta su forma no derivada.

Hasta donde no se describa particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o se pueden preparar de una manera análoga a los métodos conocidos en la técnica, o como se da a conocer en los Ejemplos posteriormente en la presente.

Un experto en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son solamente representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que se pueden emplear similarmente otros métodos bien conocidos.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance. En los Ejemplos proporcionados, las temperaturas se dan en grados Celsius. A menos que se indique de otra manera, las reacciones tienen lugar a temperatura ambiente. Además, si no se indica de otra manera, las condiciones de la HPLC analítica son como sigue:

- Condición 1: UPLC-MS, columna Acquity BEH C18, 1.7 micras, 2.1 x 50 milímetros, horno a 40°C, eluyentes: A = agua + ácido fórmico al 0.1 por ciento, y B = MeCN + ácido fórmico al 0.1 por ciento, gradiente del 20 por ciento al 100 por ciento de B en 4.3 minutos, flujo: 0.7 mililitros/minuto, detección UV/VES (DAD), ESI (+/-).
- Condición 2: LC-MS, columna Ascentis® Express C18 2.7 micras, 2.1 x 30 milímetros, 50°C, eluyentes: A = agua + ácido fórmico al 0.05 por ciento + acetato de amonio 3.75 mM, y B = MeCN + ácido fórmico al 0.04 por ciento, gradiente del 5 por ciento al 95 por ciento de B en 3.7 minutos, flujo: 1.2 mililitros/minuto a 1.4 mililitros/minuto en 3.7 minutos, detección UV/VES (DAD), ESI (+/-).

ES 2 670 601 T3

Condición 3: UPLC-MS, columna Acquity HSS T3, 1.8 micras, 2.1 x 50 milímetros, horno a 50°C, eluyentes: A = agua + ácido fórmico al 0.05 por ciento + acetato de amonio 3.75 mM, y B = MeCN + ácido fórmico al 0.04 por ciento, gradiente del 2 por ciento al 98 por ciento de B en 1.40 minutos, entonces 98 por ciento de B durante 0.75 minutos, flujo: 1.2 mililitros/minuto, detección UV/VES (DAD), ESI (+/-).

5 Condición 4: HPLC, columna Cromolith® Performance, RP-18e, 100 x 4.6 milímetros + precolumna de 5 x 4.6 milímetros a temperatura ambiente, eluyentes: A = agua + ácido fórmico al 0.1 por ciento, y B = MeCN + ácido fórmico al 0.1 por ciento, gradiente del 2 por ciento al 100 por ciento de B en 8 minutos, entonces 100 por ciento de B durante 2 minutos, flujo: 2.0 mililitros/minuto, detección UV/VES (DAD).

10 Condición 5: HPLC, columna CC125/4 Nucleosil® 100-3 C18HD, 4.0 x 125 milímetros, eluyentes: A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento, y B = MeCN + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento, gradiente del 2 por ciento al 100 por ciento de B en 7 minutos, entonces 100 por ciento de B durante 2 minutos, y finalmente del 100 por ciento al 2 por ciento de B en 1 minuto, flujo: 1.0 mililitro/minuto, detección UV 215 nanómetros.

Condición 6: Condición similar a la condición 3, horno a 60°C en lugar de 50°C.

15 Condición 7: HPLC, columna Eclipse XDB C18, 5 micras, 4.6 x 150 milímetros, horno a 25°C, eluyentes: A = agua + 0.1 por ciento H₃PO₄, y B = MeCN, gradiente del 10 por ciento al 95 por ciento de B en 17 minutos, flujo: 1.0 mililitro/minuto, detección UV/VES (DAD) 210 nanómetros.

20 Condición 8: LC-MS, columna Poroshell® 120 SB-C18, 3.0 x 50 milímetros, 2.7 micras, eluyentes: A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento, y B = MeCN + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento, gradiente desde el 5 por ciento de B durante 0.5 minutos, del 5 por ciento al 95 por ciento de B en 6.5 minutos, 95 por ciento de B durante 3 minutos, del 95 por ciento al 5 por ciento de B en 0.1 minutos, 5 por ciento de B durante 2 minutos, flujo: 0.8 mililitros/minuto, UV/VES (DAD), ESI (+).

Además, si no se indica de otra manera, las condiciones de la HPLC de preparación son como sigue:

25 Condición 9: HPLC de preparación, Columna: XBridge C18 30 x 100 milímetros, 5 micras; velocidad de flujo: 30 mililitros/minuto; fase móvil: A = agua + ácido fórmico al 0.1 por ciento; B = MeCN; gradiente variable, desde el porcentaje inicial de B hasta el porcentaje final de B, y tiempo de ejecución como se especifica en los Ejemplos.

Condición 10: HPLC de preparación Sistema Gilson, columna SunFireMR de Preparación C18 OBD, 5 micras, 30 x 100 milímetros, eluyentes: A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento, y B = MeCN, gradiente del 5 por ciento de B durante 2 minutos, entonces del 5 por ciento al 100 por ciento de B en 20 minutos, y finalmente 100 por ciento de B en 3 minutos, flujo: 30 mililitros/minuto, detección UV/VIS.

30 La SFC aquiral de preparación se hace utilizando el siguiente sistema: Waters SFC THAR100; velocidad de flujo de 100 mililitros/ minuto; fase móvil: A = CO₂ súper-crítico; B = MeOH; gradiente variable, desde el porcentaje inicial de B hasta el porcentaje final de B, tiempo de ejecución y columnas como se especifican en los Ejemplos. Detalles para las columnas:

Columna DEAP: Columna de Dietil-amino (250 x 30 milímetros, 5 micras, 60 Å), Princeton.

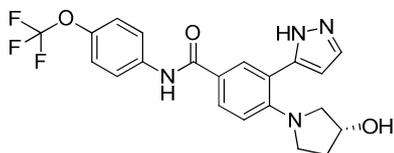
35 Columna Diol: Columna de Diol (250 x 30 milímetros, 5 micras, 60 Å), Princeton.

Los espectros de ¹H-RMN se registraron en un espectrómetro de RMN de 300 MHz o de 400 MHz, como se indica. Los picos significativos se tabulan en el orden: multiplicidad (s, singulete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; m, multiplete; br. s, singulete amplio), y número de protones.

40 En los siguientes ejemplos, se utilizan las siguientes abreviaturas: aq (acuoso); DAD (detector de arreglo de diodos); DCM (dicloro-metano); DIPEA (di-isopropil-etil-amina); DMF (N,N-dimetil-formamida); DME (dimetoxi-etano); DMSO (sulfóxido de dimetilo); dppf (1,1'-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno); eq. (equivalentes); ESI (ionización por electroaspiración); EtOAc (acetato de etilo); EtOH (etanol); Et₂O (di-etil-éter); h (horas); HPLC (cromatografía de líquidos de alto rendimiento); HV (alto vacío); iPrOH (isopropanol); iPr₂O (di-isopropil-éter); LC (cromatografía de líquidos); M (molar); MeCN (acetonitrilo); metanol (MeOH) (metanol); MeTHF (2-metil-tetrahidrofurano); min (minutos); mL (mililitros); MP (macroporoso); MPLC (cromatografía de líquidos a presión media); MS (espectrometría de masas); MW (microondas); n-BuLi (n-butil-litio); NMM (N-metil-morfolina); NMP (N-metil-pirrolidina); RMN (resonancia magnética nuclear); PL (poliestireno); PPh₃ (trifenil-fosfina); PTFE (poli-tetra-fluoro-etileno); RM (mezcla de reacción); RT (temperatura ambiente); sat. (saturado); seg (segundos); SFC (cromatografía de fluidos supercríticos); Si-Tiol (gel de sílice modificado por 3-mercapto-propilo); SPE (extracción en fase sólida); TBAF (fluoruro de tetra-n-butil-amonio); TBME (metil-terbutil-éter); TFA (ácido trifluoro-acético); THF (tetrahidrofurano); t_r (tiempo de retención); UPLC (cromatografía de líquidos de ultra-alto rendimiento), y UV (Ultravioleta).

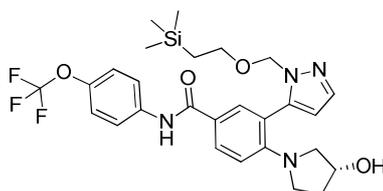
Ejemplo 1

(R)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3-(1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-benzamida



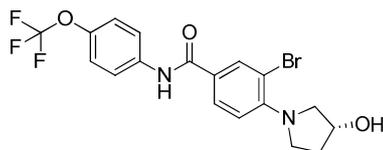
La (R)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-3-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-benzamida (Etapa 1.1, 149 miligramos, 0.2 milimoles), se agregó a un frasco de microondas, el cual se selló y se inundó con argón. Entonces, se agregó una solución de fluoruro de tetra-n-butil-amonio (TBAF) 1M en tetrahidrofurano (THF) (2.98 mililitros, 2.98 milimoles) y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 3 días. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (40 mililitros), se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna DEAP, del 25 por ciento al 30 por ciento en 6 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.98 minutos, m/z = 433.3 [M+H]⁺, m/z = 431.3 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.75 (br. s, 1 H) 1.86 (br. s, 1 H) 2.70 -2.79 (m, 1 H) 3.03 - 3.19 (m, 2 H) 3.19 - 3.28 (m, 1 H) 4.20 (br. s, 1 H) 4.73 - 4.92 (m, 1 H) 6.34 (d, J = 11.00 Hz, 1 H) 6.73 - 6.94 (m, 1 H) 7.32 (d, J = 8.80 Hz, 2 H) 7.65 (d, J = 104.42 Hz, 1 H) 7.81 - 7.96 (m, 4 H) 10.10 (s, 1 H) 12.88 (d, J = 81.67 Hz, 1 H).

Etapa 1.1: (R)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-3-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)- benzamida



Una suspensión de (R)-3-bromo-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-benzamida (Etapa 1.2, 100 miligramos, 0.225 milimoles), 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol (146 miligramos, 0.45 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (17.34 miligramos, 0.025 milimoles), y Na₂CO₃ (119 miligramos, 1.123 milimoles), en una mezcla de agua (272 microlitros), DME (953 microlitros), y EtOH (136 microlitros) se sometió a irradiación de microondas a 125°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con tetrahidrofurano (THF) (3 mililitros), se trató con Si-Tiol (Silycycle, 1.44 milimoles/gramo, 94 miligramos, 0.135 milimoles), se filtró, y el filtrado se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 4 gramos, ciclohexano / EtOAc, del 40 por ciento hasta el 100 por ciento de EtOAc), para proporcionar el compuesto del título como un aceite color amarillo. UPLC-MS (Condición 1) t_R = 3.28 minutos, m/z = 563.2 [M+H]⁺, m/z = 561.2 [M-H]⁻.

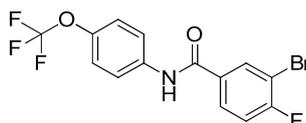
Etapa 1.2: (R)-3-bromo-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-benzamida



Una mezcla de 3-bromo-4-fluoro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-benzamida (Etapa 1.3, 100 miligramos, 0.264 milimoles), (R)-pirrolidin-3-ol (46.1 miligramos, 0.529 milimoles), y trietil-amina (147 microlitros, 1.058 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (199 microlitros) se agitó a 90°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con terbutil-metil-éter (TBME)/EtOAc (1:1) (30 mililitros), se lavó con HCl 0.5M (5 mililitros, 3 veces), y salmuera (5 mililitros), y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo que se purificó mediante

5 cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 4 gramos, ciclohexano / EtOAc-EtOH + NH₄OH al 0.1 por ciento (8:2), del 30 por ciento hasta el 80 por ciento de EtOAc-EtOH + NH₄OH al 0.1 por ciento (8:2)), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. UPLC-MS (Condición 1) t_R = 2.83 minutos, m/z = 444.9/446.9 [M+H]⁺, m/z = 443.0/445.0 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.80 -1.92 (m, 1 H) 1.92 -2.04 (m, 1 H) 3.24 - 3.30 (m, 1 H) 3.36 - 3.46 (m, 1 H) 3.60 - 3.72 (m, 1 H) 3.81 (dd, J = 10.51, 4.65 Hz, 1 H) 4.36 (d, J = 2.69 Hz, 1 H) 4.97 (d, J = 3.42 Hz, 1 H) 6.93 (d, J = 8.80 Hz, 1 H) 7.34 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.80 - 7.90 (m, 3 H) 8.14 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 10.19 (s, 1 H).

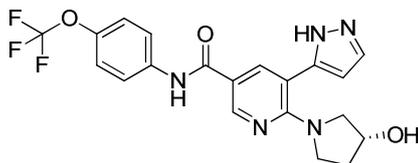
Etapa 1.3: 3-bromo-4-fluoro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-benzamida



10 SOCl₂ (2.92 mililitros, 40.0 milimoles), y N,N-dimetil-formamida (DMF) (0.5 mililitros) se le agregaron por goteo a una suspensión de ácido 3-bromo-4-fluoro-benzoico (1.752 gramos, 8 milimoles) en tolueno (20 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 1 hora. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se diluyó con tetrahidrofurano (THF) (15 mililitros). Se agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.79 mililitros, 16.00 milimoles), y la mezcla se enfrió hasta 0°C, se trató con una solución de 4-trifluoro-metoxi-anilina (1.181 mililitros, 8.80 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (5 mililitros), y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se trató con HCl acuoso 1M (50 mililitros), y se extrajo con terbutil-metil-éter (TBME). Los extractos combinados se lavaron con HCl acuoso 1M, NaOH acuoso 1M y salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo se cristalizó a partir de n-heptano / dicloro-metano (DCM), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 1) t_R = 3.18 minutos, m/z = 377.9/379.9 [M+H]⁺, m/z = 375.9/377.9 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.38 (d, J = 8.6 Hz, 2 H) 7.56 (t, J = 8.7 Hz, 1 H) 7.87 (d, J = 9.0 Hz, 2 H) 8.00 - 8.06 (m, 1 H) 8.32 (dd, J = 6.6, 2.2 Hz, 1 H) 10.50 (s, 1 H).

Ejemplo 2

(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-3-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



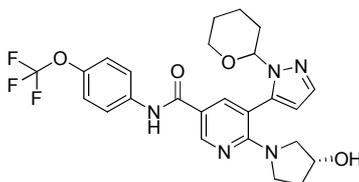
25 Se agregó una mezcla de DME (570 microlitros), agua (163 microlitros), y EtOH (81 microlitros), a una mezcla de (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.2, 60 miligramos, 0.134 milimoles), ácido (1H-pirazol-3-il)-borónico (45.1 miligramos, 0.403 milimoles) Pd(PPh₃)₂Cl₂ (9.44 miligramos, 0.013 milimoles), Na₂CO₃ (42.8 miligramos, 0.403 milimoles) en un frasco de microondas. El frasco se selló, se evacuó / purgó 3 veces con argón, y la mezcla de reacción se sometió a irradiación de microondas a 120°C durante 10 minutos. Se agregó ácido (1H-pirazol-3-il)-borónico (45.1 miligramos, 0.403 milimoles) adicional, y la mezcla de reacción se sometió a irradiación de microondas a 120°C durante 30 minutos, se diluyó con tetrahidrofurano (THF) (1 mililitro), y se trató con Si-Tiol (Silycycle 1.27 milimoles/gramo, 52.9 miligramos, 0.067 milimoles), se filtró, y el filtrado se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante HPLC de preparación (Condición 9, 15 por ciento durante 0.2 minutos entonces del 15 por ciento al 45 por ciento en 14 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco.

40 De una manera alternativa, el Ejemplo 2 se preparó mediante el tratamiento de una suspensión de 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.1, 68.3 gramos, 132 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (1 litro) con ácido trifluoro-acético (TFA) (305 mililitros, 3959 milimoles), a temperatura ambiente durante 5.5 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (2 litros), se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (500 mililitros, 3 veces), y salmuera (500 mililitros, 2 veces), y se secó sobre Na₂SO₄. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se suspendió en dicloro-metano (DCM) (300 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. El material cristalino se filtró, se lavó con dicloro-metano (DCM) (200 mililitros), se secó bajo presión reducida, se disolvió en metanol (MeOH) (500 mililitros), y se trató con Si-Tiol (Biotage, 10.0 gramos, 13 milimoles) durante 15 horas a 30°C. La mezcla se filtró y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó

mediante cromatografía por evaporación instantánea (gel de sílice, 2 kilogramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH), 95:5), y se cristalizó a partir de MeCN para proporcionar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco.

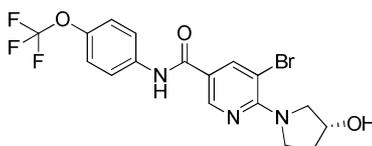
5 Datos analíticos, para el Ejemplo 2: HPLC (Condición 5) t_R = 5.37 minutos, HPLC Quiral (CHIRALPAK® AD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente : EtOH/MeCN (98:2), 0.5 mililitros/minuto, Ultravioleta de 210 nanómetros) t_R = 9.62 minutos, UPLC-MS (condición 1) t_R = 1.79 minutos, m/z = 434.1/435.1 $[M+H]^+$, m/z = 432.1/433.1 $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.65 -1.76 (m, 1 H) 1.76 -1.87 (m, 1 H) 2.97 (d, J = 11.37 Hz, 1 H) 3.19 - 3.29 (m, 2 H) 3.34 - 3.48 (m, 1 H) 4.10 - 4.23 (m, 1 H) 4.89 (br. s, 1 H) 6.40 (s, 1 H) 7.33 (d, J = 8.70 Hz, 2 H) 7.58/7.82 (br. s, 1 H) 7.89 (d, J = 8.70 Hz, 2 H) 8.06 (s, 1 H) 8.77 (s, 1 H) 10.21 (s, 1 H) 12.88/13.07 (br. s, 1 H).

10 Etapa 2.1: 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



15 El pinacol-éster de ácido 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-borónico (59.9 gramos, 214.4 milimoles), K_3PO_4 (105.7 gramos, 498.1 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (9.6 gramos, 8.30 milimoles) se le agregaron a una suspensión de (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.2, 74 gramos, 165.8 milimoles) en tolueno (740 mililitros), y se agitó a 110°C durante 2.5 horas bajo argón. La mezcla entonces se diluyó con EtOAc (2 litros), se lavó con agua (1 litro, 2 veces), y se secó sobre Na_2SO_4 . El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (gel de sílice, 2 kilogramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH), 95:5). El material resultante se disolvió en una mezcla de metanol (MeOH) (500 mililitros), y tetrahydrofurano (THF) (800 mililitros), y se trató con Si-Tiol (Biotage, 15 gramos, 19.5 milimoles), a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla se filtró y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se cristalizó a partir de metanol (MeOH) para dar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 5.99 minutos, UPLC-MS (Condición 6) m/z = 518.2 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.42 (br. s, 3 H) 1.63 -1.98 (m, 4 H) 2.20 -2.37 (m, 1 H) 2.71 -2.94 (m, 1 H) 3.21 (d, J = 6.65 Hz, 3 H) 3.32 - 3.51 (m, 1 H) 3.69 - 3.92 (m, 1 H) 4.08 - 4.24 (m, 1 H) 4.75 - 4.88 (m, 1 H) 4.89 - 5.17 (m, 1 H) 6.29 - 6.49 (m, 1 H) 7.32 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.59 (s, 1 H) 7.78 - 8.10 (m, 3 H) 8.80 (t, J = 2.54 Hz, 1 H) 10.05 -10.28 (m, 1 H).

Etapa 2.2: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



30 El (R)-pirrolidin-3-ol (17.1 mililitros, 211.2 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (67.6 mililitros, 387.6 milimoles) se le agregaron a una suspensión de 5-bromo-6-cloro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.3, 69.6 gramos, 175.9 milimoles) en iPrOH (120 mililitros), y se agitó a 140°C durante 1 hora. La mezcla se diluyó con EtOAc (1 litro), se lavó con HCl 1N (200 mililitros, 2 veces), una solución saturada de $NaHCO_3$ (200 mililitros), y salmuera (200 mililitros, 2 veces), y se secó sobre Na_2SO_4 . El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el producto se cristalizó a partir de EtOAc / iPr_2O para proporcionar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 6.58 minutos, UPLC-MS (Condición 6) m/z = 446.0/448.0 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.78 -2.01 (m, 2 H) 3.55 (d, J = 11.34 Hz, 1 H) 3.64 - 3.76 (m, 1 H) 3.79 - 3.91 (m, 2 H) 4.33 (br. s, 1 H) 4.97 (d, J = 3.13 Hz, 1 H) 7.33 (d, J = 9.38 Hz, 2 H) 7.83 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 8.30 - 8.36 (m, 1 H) 8.66 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 10.20 (s, 1 H).

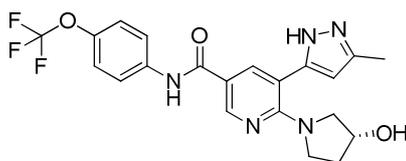
Etapa 2.3: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Una solución agitada de ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico (375 gramos, 1.586 moles), y N,N-dimetil-formamida (DMF) (37 mililitros) en tolueno (3.1 litros) se trató por goteo con SOCl_2 (347 mililitros, 4.758 moles), a temperatura ambiente, y entonces se agitó a 85°C durante 2.5 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (3.1 litros), se enfrió a -25°C, se trató primeramente, con di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (543 mililitros, 3.172 moles), y entonces por la adición por goteo de una solución de 4-(trifluoro-metoxi)-anilina (295 gramos, 1.665 moles) en tetrahidrofurano (THF) (3.1 litros), después de 30 minutos a 10°C, el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en terbutil-metil-éter (TBME) (4 litros), se lavó con HCl 1N (1 litro, 2 veces), una solución saturada de NaHCO_3 (1 litro), y salmuera (200 mililitros, 2 veces), y se secó sobre Na_2SO_4 . El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el producto se cristalizó a partir de EtOAc / n-heptano, para dar el compuesto del título como un sólido cristalino color beige. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.25$ minutos, $m/z = 393/395/397$ [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.40 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.86 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 8.73 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 8.92 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 10.69 (s, 1 H).

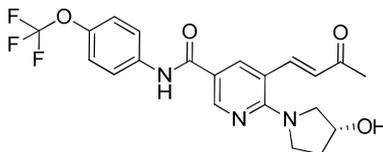
Ejemplo 3

15 (R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



La (R,E)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(3-oxo-but-1-en-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 3.1, 50 miligramos, 0.091 milimoles), e hidrazida de ácido toluen-4-sulfónico (34.5 miligramos, 0.181 milimoles), y EtOH (302 microlitros) se le agregaron a un frasco de microondas, el cual se selló y se agitó a 80°C durante 1.5 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente, se agregó NaOMe (17.15 miligramos, 0.318 milimoles), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 48 horas. La mezcla de reacción acuosa se acidificó con ácido fórmico acuoso, se filtró a través de un filtro de membrana de PTFE de 0.2 μm PTFE y se purificó mediante HPLC de preparación (Condición 9, del 20 por ciento al 50 por ciento en 18 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 1) $t_R = 2.08$ minutos, $m/z = 448.0$ [M+H]⁺, $m/z = 446.0$ [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.68 -1.79 (m, 1 H) 1.78 -1.90 (m, 1 H) 2.29 (br. s, 3 H) 2.98 (d, J = 11.74 Hz, 1 H) 3.25 - 3.37 (m, 2 H) 3.40 - 3.53 (m, 1 H) 4.21 (br. s, 1 H) 4.83 (br. s, 1 H) 6.13 (s, 1 H) 7.33 (d, J = 8.31 Hz, 2 H) 7.86 (d, 2 H) 8.01 (br. s, 1 H) 8.71 (br. s, 1 H) 10.15 (s, 1 H) 12.57 (br. s, 1 H).

Etapa 3.1: (R,E)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(3-oxo-but-1-en-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida

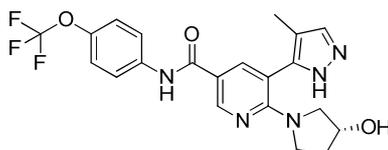


30 La (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.2, 250 miligramos, 0.560 milimoles), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (3.77 miligramos, 0.017 milimoles), tri-*o*-tolil-fosfina (20.46 miligramos, 0.067 milimoles), but-3-en-2-ona (55.1 microlitros, 0.672 milimoles), y trietil-amina (102 microlitros, 0.728 milimoles) se le agregaron a un frasco de microondas, el cual se selló y se purgó con argón. Se agregó N,N-dimetil-formamida (DMF) (1.87 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a 130°C durante 6 horas. Entonces se agregó but-3-en-2-ona (22.96 microlitros, 0.280 milimoles) adicional, y la mezcla se agitó a 130°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua (25 mililitros), y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (20 mililitros, 3 veces). Los extractos combinados se secaron sobre MgSO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 12

gramos, ciclohexano / EtOAc-EtOH + NH₄OH al 0.1 por ciento (9:1), del 40 por ciento al 75 por ciento de EtOAc-EtOH + NH₄OH al 0.1 por ciento (9:1)). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se destiló azeotrópicamente con xileno y se trituró en ciclohexano, para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo. UPLC-MS (Condición 1) $t_R = 2.39$ minutos, $m/z = 436.0$ [M+H]⁺, $m/z = 434.0$ [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.82 -1.91 (m, 1 H) 1.91 -2.00 (m, 1 H) 2.35 (s, 3 H) 3.43 (d, J = 11.25 Hz, 1 H) 3.59 - 3.67 (m, 1 H) 3.78 - 3.88 (m, 2 H) 4.34 (br. s, 1 H) 4.99 (d, J = 3.18 Hz, 1 H) 6.61 (d, J = 15.89 Hz, 1 H) 7.36 (d, J = 8.31 Hz, 2 H) 7.81 - 7.93 (m, J = 16.14, 9.29 Hz, 3 H) 8.29 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 8.71 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

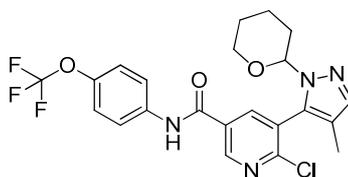
Ejemplo 4

10 (R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(4-metil-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



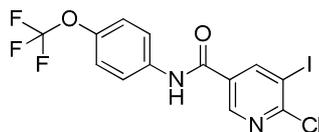
Se agregaron DIPEA (43.9 microlitros, 0.252 milimoles) a una solución de 6-cloro-5-(4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 4.1, 55 miligramos, 0.114 milimoles), y (R)-pirrolidin-3-ol (11.96 miligramos, 0.137 milimoles) en iPrOH (114 microlitros) en un frasco, el cual se selló y se calentó a 140°C durante 18 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, EtOAc / metanol (MeOH), 98:2), para proporcionar la 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida como una espuma grisácea. Este intermediario (39 miligramos, 0.073 milimoles) se disolvió en dicloro-metano (DCM) (0.8 mililitros), se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.262 mililitros, 3.4 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió en 25 mililitros de Na₂CO₃ al 10 por ciento, y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) de 2 por ciento hasta 10 por ciento de MeOH), para proporcionar el compuesto del título como un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.46$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.92$ minutos, $m/z = 448.4$ [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.64 -1.81 (m, 2 H) 1.86 (s, 3 H) 2.78 -2.97 (m, 1 H) 3.07 - 3.41 (m, 3 H) 4.18 (br. s, 1 H) 4.81 (br. s, 1 H) 7.32 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.58 (br. s, 1 H) 7.85 (d, J = 9.38 Hz, 2 H) 7.93 (br. s, 1 H) 8.73 (br. s, 1 H) 10.14 (s, 1 H) 12.63 (br. s, 1 H).

30 Etapa 4.1: 6-cloro-5-(4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Se agregó K₃PO₄ (127 miligramos, 0.6 milimoles) a una solución de 6-cloro-5-yodo-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 4.2, 89 miligramos, 0.2 milimoles), y 4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (58.4 miligramos, 0.2 milimoles) en dioxano (1 mililitro) en un frasco el cual se inundó con argón, se calentó a 110°C, y entonces se agregó PdCl₂(dppf) (7.32 miligramos, 0.01 milimoles). El frasco se selló, y la mezcla de reacción se agitó bajo argón a 110°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se disolvió en EtOAc, y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, n-heptano / EtOAc forma 50 por ciento hasta el 100 por ciento de EtOAc), para proporcionar el compuesto del título como una espuma blanca. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.24$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.22$ minutos, $m/z = 481.2$ [M+H]⁺.

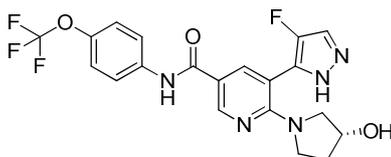
Etapa 4.2: 6-cloro-5-yodo-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Se agregaron DMF (0.13 mililitros), y SOCl_2 (0.734 mililitros, 10.05 milimoles) a una mezcla de ácido 6-cloro-5-yodo-nicotínico (1.00 gramos, 3.35 milimoles), y 4-(trifluoro-metoxi)-anilina (0.623 miligramos, 3.52 milimoles) en tolueno (7 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 1 hora. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y bajo argón, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (7.00 mililitros) y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.17 mililitros, 6.7 milimoles), se enfrió a -15°C se trató por goteo con una solución de 4-(trifluoro-metoxi)-anilina (0.476 mililitros, 3.52 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (7.00 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se trató con HCl acuoso 1N (30 mililitros), y se extrajo con el terbutil-metil-éter (TBME) (100 mililitros). Los extractos combinados se lavaron con Na_2CO_3 saturado acuoso (30 mililitros), y salmuera (30 mililitros), se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida hasta que se comenzó la cristalización. El producto se trituró con n-heptano, se filtró, y se secó, para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.36$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.23$ minutos, $m/z = 441.1$ [M-H]⁻

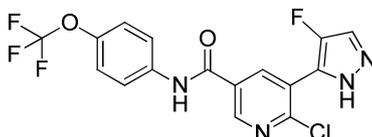
Ejemplo 5

15 (R)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Se agregó DIPEA (71.9 microlitros, 0.412 milimoles) a una solución de 6-cloro-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 5.1, 75 miligramos, 0.187 milimoles), y (R)-pirrolidin-3-ol (19.97 miligramos, 0.225 milimoles) en iPrOH (187 microlitros), en un frasco, el cual se selló y se calentó a 140°C durante 1 hora. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, y se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) del 2 por ciento al 10 por ciento de MeOH), para proporcionar el compuesto del título como una espuma blanca. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.73$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.93$ minutos, $m/z = 452.4$ [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.64 -1.95 (m, 2 H) 3.00 (d, J = 11.34 Hz, 1 H) 3.18 - 3.51 (m, 3 H) 4.22 (br. s, 1 H) 4.86 (br. s, 1 H) 7.32 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.77 - 8.11 (m, 4 H) 8.76 (br. s, 1 H) 10.17 (s, 1 H) 12.90 (br. s, 1 H).

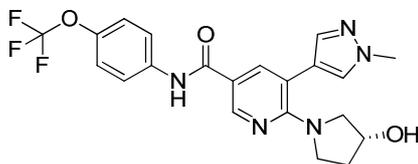
Etapa 5.1: 6-cloro-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



30 Se agregó $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (17.33 miligramos, 0.015 milimoles) a una solución de 6-cloro-5-yodo-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 4.2, 133 miligramos, 0.3 milimoles), y 4-fluoro-5-(tributil-estani)-1H-pirazol (101 miligramos, 0.270 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (1 mililitro), en un frasco bajo una atmósfera de argón. El frasco se selló, y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 18 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, n-heptano / EtOAc del 10 por ciento al 50 por ciento de EtOAc), para proporcionar el compuesto del título como un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.5$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.05$ minutos, $m/z = 399.2$ [M-H]⁻.

Ejemplo 6

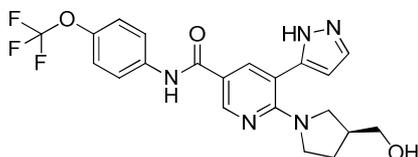
(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Una mezcla de (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.2, 60 miligramos, 0.134 milimoles), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (42 miligramos, 0.202 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (9.44 miligramos, 0.013 milimoles), Na₂CO₃ (42.8 miligramos, 0.403 milimoles), DME (570 microlitros), agua (163 microlitros), y EtOH (81 microlitros) en un frasco de microondas se selló, se evacuó / purgó con argón y se sometió a irradiación de microondas a 120°C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con tetrahidrofurano (THF) (1 mililitro), se trató con Si-Tiol (Silicycle, 1.44 milimoles/gramo, 46.7 miligramos, 0.067 milimoles), se filtró, y el filtrado se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante HPLC de preparación (Condición 9, 25 por ciento durante 0.2 minutos entonces del 15 por ciento al 45 por ciento en 14 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (Condición 2) t_R = 1.61 minutos, m/z = 448.2/449.2 [M+H]⁺, m/z = 446.1 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.71 -1.80 (m, 1 H) 1.81 -1.91 (m, 1 H) 2.98 (d, J = 11.25 Hz, 1 H) 3.25 - 3.39 (m, 2 H) 3.44 - 3.53 (m, 1 H) 3.89 (s, 3 H) 4.22 (s, 1 H) 4.84 (s, 1 H) 7.34 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.53 (s, 1 H) 7.84 (d, J = 5.38 Hz, 2 H) 7.86 - 7.88 (m, 1 H) 7.94 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 8.67 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 10.14 (s, 1 H).

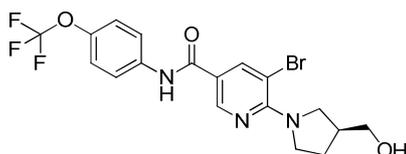
Ejemplo 7

(S)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó en una manera análoga a la del Ejemplo 2 utilizando (S)-5-bromo-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 7.1), y ácido (1H-pirazol-3-il)-borónico para proporcionar un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 1) t_R = 1.89 minutos, m/z = 448.0 [M+H]⁺, m/z = 446.1 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.48 -1.64 (m, 1 H) 1.77 -1.90 (m, 1 H) 2.15 -2.28 (m, 1 H) 3.03 (dd, J = 11.25, 6.85 Hz, 1 H) 3.22 (br. s, 2 H) 3.25 - 3.31 (m, 2 H) 3.34 - 3.39 (m, 1 H) 4.62 (br. s, 1 H) 6.39 (br. s, 1 H) 7.34 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.51 - 7.84 (m, 1 H) 7.83 - 7.90 (m, 2 H) 8.03 (s, 1 H) 8.68 - 8.79 (m, 1 H) 10.19 (s, 1 H) 12.87 -13.12 (m, 1 H).

Etapa 7.1: (S)-5-bromo-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



Una mezcla de 5-bromo-6-cloro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.3, 500 miligramos, 1.264 milimoles), clorhidrato de (S)-beta-prolinol (226 miligramos, 1.643 milimoles), di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (662 microlitros, 3.79 milimoles), y iPrOH (1.945 mililitros) en un frasco sellado se sometió a irradiación de microondas a 140°C durante 60 minutos. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se trató con HCl acuoso 0.5M (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con HCl 0.5M (10 mililitros), y agua, se secaron sobre MgSO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto el cual se trituró con ciclohexano, se filtró, y se secó, para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 1) t_R = 2.76 minutos, m/z = 460.0/462.0 [M+H]⁺, m/z = 458.0/460.0 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆)

δ ppm 1.59 -1.76 (m, 1 H) 1.92 -2.04 (m, 1 H) 2.26 -2.44 (m, 1 H) 3.37 - 3.50 (m, 2 H) 3.56 (dd, J = 11.00, 7.34 Hz, 1 H) 3.67 - 3.85 (m, 3 H) 4.71 (br. s, 1 H) 7.35 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.85 (d, 1 H) 8.34 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 8.68 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

Ejemplo 8

5 (S)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregó K_3PO_4 (41.3 miligramos, 0.195 milimoles) a una solución de (S)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 8.1, 30 miligramos, 0.067 milimoles), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (36.2 miligramos, 0.13 milimoles) en tolueno (0.32 mililitros), en un frasco, el cual se inundó con argón. Se agregó $Pd(PPh_3)_4$ (3.75 miligramos, 0.032 milimoles). El frasco se selló y se calentó a $110^\circ C$ durante 18 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) del 2 por ciento al 5 por ciento de MeOH), para proporcionar la N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((S)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida, una porción de la cual (21 miligramos, 0.039 milimoles) se disolvió en dicloro-metano (DCM) (0.5 mililitros), se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.141 mililitros, 1.82 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió en Na_2CO_3 acuoso al 10 por ciento (10 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) del 2 por ciento al 5 por ciento de MeOH), para proporcionar el compuesto del título. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.49$ minutos, HPLC Quiral (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente: n-heptano/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 mililitro/ minuto, UV DAD, $t_R = 13.32$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.92$ minutos, $m/z = 450.3 [M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.65 -1.76 (m, 1 H) 1.77 -1.92 (m, 1 H) 2.86 -2.97 (m, 1 H) 3.18 - 3.35 (m, 2 H) 3.34 - 3.47 (m, 1 H) 4.10 - 4.24 (m, 1 H) 4.66 - 4.93 (m, 1 H) 6.28 - 6.42 (m, 1 H) 7.31 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.85 (d, J = 8.99 Hz, 3 H) 7.96 - 8.05 (m, 1 H) 8.64 - 8.81 (m, 1 H) 10.17 (s, 1 H) 12.80 -13.14 (m, 1 H).

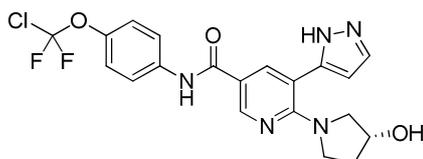
Etapa 8.1: (S)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



30 Se agregó DIPEA (190 microlitros, 1.1 milimoles) a una solución de 5-bromo-6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 9.3, 206 miligramos, 0.5 milimoles), y (S)-pirrolidin-3-ol (52.3 miligramos, 0.6 milimoles) en iPrOH (500 microlitros) en un frasco, el cual se selló y se calentó a $140^\circ C$ durante 1 hora. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con HCl acuoso 0.5M y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, n-heptano / EtOAc del 20 al 100 por ciento de EtOAc), para proporcionar el compuesto del título como un polvo cristalino blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.59$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.17$ minutos, $m/z = 462.0/464.1 [M+H]^+$.

Ejemplo 9

(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



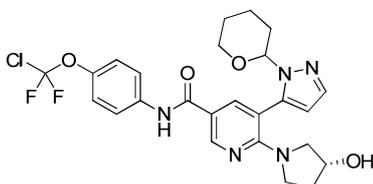
Una mezcla de (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2, 100 miligramos, 0.216 milimoles), y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol (215 miligramos, 0.663 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (17 miligramos, 0.024 milimoles), Na₂CO₃ (115 miligramos, 1.081 milimoles), DME (917 microlitros), agua (262 microlitros), y EtOH (131 microlitros) en un frasco de microondas se selló, se evacuó / purgó 3 veces con argón y se sometió a irradiación de microondas a 125°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con 2 mililitros de DME, se agitó con Si-Tiol (Silycicle 1.44 milimoles/gramo, 90 miligramos, 0.130 milimoles) durante 3 horas. La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de PTFE de 0.45 micras, y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 12 gramos, ciclohexano / EtOAc del 40 por ciento al 100 por ciento de EtOAc), para proporcionar el intermediario protegido como un aceite incoloro. Entonces se agregaron etilen-diamina (96 microlitros, 1.428 milimoles), y fluoruro de tetra-n-butil-amonio (TBAF) 1M en tetrahidrofurano (THF) (1.428 mililitros, 1.428 milimoles), y la mezcla de reacción se agitó a 80-85°C durante 5 días. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (40 mililitros), se lavó 3 veces con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna DEAP, del 25 por ciento al 30 por ciento en 6 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco.

De una manera alternativa, el Ejemplo 9 se preparó mediante la adición de ácido trifluoro-acético (TFA) (168 mililitros, 2182 milimoles) a una solución de N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 9.1, 31.3 gramos, 54.6 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (600 mililitros). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2.5 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (1.5 litros), se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (500 mililitros, 3 veces), y salmuera (500 mililitros), se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se suspendió en dicloro-metano (DCM) (300 mililitros), se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, se filtró, se lavó con dicloro-metano (DCM) (200 mililitros), se secó y se purificó mediante cromatografía (gel de sílice, 1 kilogramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH), 95:5). El residuo se disolvió en metanol (MeOH) (500 mililitros), y se trató con Si-Tiol (Biotage, 5.0 gramos, 6.5 milimoles) durante 16 horas a 25°C. La resina se filtró, el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se cristalizó a partir de MeCN para proporcionar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco.

De una manera alternativa, el Ejemplo 9 se preparó mediante la adición por goteo de HCl acuoso (7.7 mililitros de 6M) a una solución de N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 9.1, 3.8 gramos, 7.12 milimoles) en metanol (MeOH) (20 mililitros), y tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros) después de enfriarse, (menos de 35°C). La mezcla se agitó a 22°C durante 2 horas, y entonces se agregó NaOH (10°C) frío (22 mililitros). A través de toda la adición la temperatura se mantuvo por debajo de 30°C y el pH se mantuvo en el intervalo de 9-10. La mezcla de reacción se agitó luego durante 30 minutos a 30°C. El solvente se evaporó bajo presión reducida, hasta que se precipitó el compuesto deseado. El precipitado se filtró y se secó para dar el compuesto del título como un sólido amarillo.

Datos analíticos, Ejemplo 9: HPLC (Condición 5) t_R = 5.54 minutos, HPLC Chiral (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente : n-heptano/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 mililitro/minuto, Ultravioleta de 210 nanómetros) t_R = 10.17 minutos, UPLC-MS (condición 3) t_R = 0.93 minutos, m/z = 450.3 [M+H]⁺, m/z = 494.1 [M+fórmico ácido-H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.65 -1.76 (m, 1 H) 1.76 -1.87 (m, 1 H) 2.93 (d, J = 11.73 Hz, 1 H) 3.19 - 3.29 (m, 2 H) 3.35 - 3.51 (m, 1 H) 4.10 - 4.25 (m, 1 H) 4.89 (br. s, 1 H) 6.41 (br. s, 1 H) 7.33 (d, J = 8.50 Hz, 2 H) 7.57/7.83 (br. s, 1 H) 7.90 (d, J = 8.50 Hz, 2 H) 8.07 (br. s, 1 H) 8.77 (br. s, 1 H) 10.23 (s, 1 H) 12.97/13.15 (br. s, 1 H).

Etapa 9.1: N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida

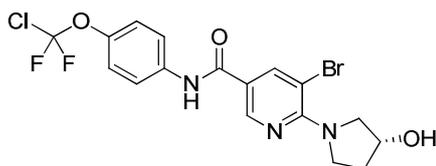


El 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (29.6 gramos, 102 milimoles), K_3PO_4 (51.6 gramos, 236 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (4.55 gramos, 3.93 milimoles) se le agregaron a una suspensión de (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2, 36.4 gramos, 79 milimoles) en tolueno (360 mililitros), bajo una atmósfera de argón, y la mezcla se agitó a 110°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se vertió en salmuera (500 mililitros), y se extrajo con EtOAc (1 litro, 2 veces). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (500 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía (columna de gel de sílice, 1.5 kilogramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH), 95:5), para proporcionar una espuma color amarillo oscuro, que se disolvió en metanol (MeOH) / dicloro-metano (DCM) (1 litros de 3:1), y se trató con Si-Tiol (Biotage, 35 gramos, 45.5 milimoles) durante 17 horas a 30°C. La resina se filtró, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, hasta que se cristalizó el compuesto deseado. El producto filtrado se lavó con metanol (MeOH), y se secó, para proporcionar el compuesto del título.

De una manera alternativa, la Etapa 9.1 se preparó mediante la adición de 4-(cloro-difluoro-metoxi)-anilina (16.6 gramos, 84.9 milimoles), NMM (21.7 gramos, 212.1 milimoles), hidrato de hidroxibenzotriazol (HOBt.H₂O, 11.9 gramos, 77.77 milimoles), y clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida (EDCI.HCl, 20.9 gramos, 109.0 milimoles) a una solución de ácido 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotínico (Etapa 9.4, 29.83 gramos, 70.7 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (271 mililitros). La mezcla se agitó durante 1.5 horas a 25°C, y entonces a 65°C durante 16 horas. Después de enfriarse, la mezcla de reacción a 35°C, se agregó EDCI.HCl (13.3 gramos, 69.4 milimoles) adicional, y la mezcla de reacción se agitó durante 1.5 horas a 35°C, entonces nuevamente a 65°C durante 16 horas. Después de enfriarse, la mezcla de reacción 35°C, se agregó agua (150 mililitros), el tetrahidrofurano (THF) se removió bajo presión reducida, se agregó EtOAc (180 mililitros), y la mezcla se agitó a 35°C durante 1 hora. Las dos capas se separaron, y la fase acuosa se extrajo entonces con EtOAc (60 mililitros). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (90 mililitros), salmuera (90 mililitros). El solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un sólido color café, el cual se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) 40:1 a 20:1), para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo.

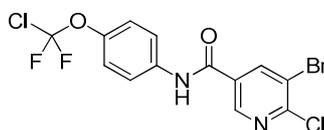
Datos analíticos para la Etapa 9.1: HPLC (Condición 5) t_R = 6.12 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.06 minutos, m/z = 533.2 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.36 -2.02 (m, 7 H) 2.23 -2.38 (m, 1 H) 3.08 - 3.29 (m, 2 H) 3.32 - 3.52 (m, 2 H) 3.73 - 3.93 (m, 1 H) 4.13 - 4.25 (m, 1 H) 4.80 - 4.90 (m, 1 H) 4.95 - 5.17 (m, 1 H) 6.33 - 6.50 (m, 1 H) 7.33 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.61 (d, J = 1.56 Hz, 1 H) 7.86 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.97 - 8.11 (m, 1 H) 8.82 (s, 1 H) 10.13 -10.25 (m, 1 H).

Etapa 9.2: (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



Se agregaron (R)-pirrolidin-3-ol (9.55 gramos, 109.6 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (35.1 mililitros, 201.3 milimoles) a una suspensión de 5-bromo-6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 9.3, 37.7 gramos, 91.5 milimoles) en iPrOH (65 mililitros), y se agitó a 140°C durante 1 hora. Se agregó EtOAc (700 mililitros), y la solución se lavó HCl 1N (200 mililitros, 2 veces), sat. $NaHCO_3$ saturado (200 mililitros), y salmuera (200 mililitros, 2 veces), se secó sobre Na_2SO_4 , y la solución se concentró bajo presión reducida hasta que se comenzó la cristalización. Se agregó n-heptano (1 litro) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se filtró, y se lavó con iPr_2O (500 mililitros), para proporcionar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 6.68 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.10 minutos, m/z = 462.2/464.2 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.78 -2.01 (m, 2 H) 3.55 (d, J = 11.34 Hz, 1 H) 3.66 - 3.75 (m, 1 H) 3.79 - 3.93 (m, 2 H) 4.34 (br. s, 1 H) 4.98 (d, =3.13 Hz, 1 H) 7.32 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.84 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 8.33 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 8.66 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

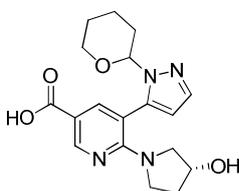
Etapa 9.3: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



ES 2 670 601 T3

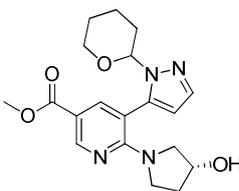
Se agregaron DMF (2.55 mililitros, 33.0 milimoles), y SOCl_2 (24.08 mililitros, 330 milimoles) a una suspensión de ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico (26 gramos, 110 milimoles) en tolueno (220 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 1 hora. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (220 mililitros), y se enfrió a -16°C . Se agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (38.4 mililitros, 220 milimoles), seguida la adición por goteo de una solución de 4-(cloro-difluoro-metoxi)-anilina (22.35 gramos, 115 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (220 mililitros) durante 15 minutos. La suspensión se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en terbutil-metil-éter (TBME) (700 mililitros), se lavó con HCl 1N (200 mililitros, 2 veces), NaHCO_3 saturado (200 mililitros), y salmuera (200 mililitros, 2 veces), se secó sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto el cual se cristalizó a partir de EtOAc - n-heptano para proporcionar el compuesto del título como un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 5) $t_R = 7.77$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.24$ minutos, $m/z = 409.1/411.1/413.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.38 (d = 8.99 Hz, 2 H) 7.85 (d, = 8.99 Hz, 2 H) 8.72 (br. s, 1 H) 8.92 (br. s, 1 H) 10.68 (s, 1 H).

Etapa 9.4: ácido 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotínico



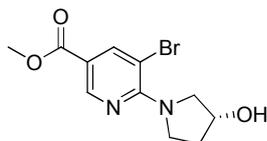
Se agregó NaOH acuoso (180 mililitros de 2.6 M) a una solución de 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinato de metilo (Etapa 9.5, 111 gramos, 299 milimoles) en metanol (MeOH) (270 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. El metanol (MeOH) se evaporó bajo presión reducida, y el residuo acuoso se trató con salmuera (90 mililitros), se extrajo con MeTHF dos veces (540 mililitros + 360 mililitros), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (90 mililitros). Se le agregó MeTHF a las capas acuosas combinadas, la mezcla bifásica se enfrió hasta 0°C , y se acidificó (pH = 4-4.5) con una solución acuosa de HCl (18 por ciento), y se extrajo con MeTHF. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se recristalizó a partir de a EtOAc / TBME (1:1), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 7) $t_R = 4.74$ minutos, LC-MS (Condición 8) $t_R = 3.37$ minutos, $m/z = 359.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.44 (br. s, 2 H), 1.51 (d, J = 11.54 Hz, 2 H), 1.64 - 1.86 (m, 4 H), 1.90 (br. s, 1 H), 2.31 (d, J = 9.29 Hz, 1 H), 2.77 (br. s, 1 H), 3.10 (br. s, 1 H), 3.21 (d, J = 8.78 Hz, 2 H), 3.27 - 3.51 (m, 4 H), 3.87 (d, J = 11.54 Hz, 1 H), 4.16 (br. s, 1 H), 4.75 - 4.93 (m, 1 H), 5.04 (br. s, 1 H), 6.35 (d, J = 17.32 Hz, 1 H), 7.51 - 7.64 (m, 1 H), 7.64 - 7.82 (m, 1 H), 8.67 (d, J = 2.26 Hz, 1 H), 12.58 (br. s, 1 H).

Etapa 9.5: 6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinato de metilo



Una mezcla de (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinato de metilo (Etapa 9.6, 90 gramos, 299 milimoles), pinacol-éster de ácido 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-borónico (103.9 gramos, 373.6 milimoles), K_3PO_4 (126.9 gramos, 597.7 milimoles), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (6.29 gramos, 8.97 milimoles) en tolueno (900 mililitros) se agitó a 92°C durante 16 horas. Después del enfriamiento de la mezcla a temperatura ambiente, la solución se lavó con agua (450 mililitros), solución de NaHCO_3 al 5 por ciento (430 mililitros), y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se utilizó sin mayores purificaciones en el siguiente paso. HPLC (Condición 7) $t_R = 6.929$ minutos, LC-MS (Condición 8) $t_R = 4.30$ minutos, $m/z = 373.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.19 - 1.28 (m, 1 H), 1.35 - 1.63 (m, 4 H), 1.63 - 1.86 (m, 3 H), 1.89 (br. s, 1 H), 2.12 - 2.39 (m, 1 H), 3.11 (br. s, 1 H), 3.18 - 3.48 (m, 4 H), 3.78 (s, 4 H), 3.88 (d, J = 11.54 Hz, 1 H), 4.08 - 4.24 (m, 1 H), 4.86 (dd, J = 18.20, 2.89 Hz, 1 H), 5.02 (d, J = 8.28 Hz, 1 H), 6.39 (br. s, 1 H), 7.58 (d, J = 1.25 Hz, 1 H), 7.78 (br. s, 1 H), 8.69 (t, J = 2.01 Hz, 1 H).

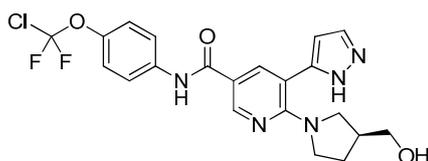
Etapa 9.6: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinato de metilo



Se agregó DIPEA (105.3 gramos, 142.2 mililitros, 814.4 milimoles) a una solución de 5-bromo-6-cloronicotinato de metilo (85 gramos, 339.5 milimoles), y (R)-pirrolidin-3-ol (54.2 gramos, 441.2 milimoles) en acetato de isopropilo y la mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 14 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar al residuo, el cual se disolvió en tolueno (850 mililitros), se lavó con agua (127 mililitros), y salmuera (127 mililitros) y se concentró bajo presión reducida hasta que comenzó la precipitación. Se agregó lentamente n-heptano (340 mililitros) a la mezcla agitada a 22°C, la cual entonces se enfrió hasta 0°C y el producto se filtró, se lavó con una mezcla de tolueno / n-heptano (1:1.5), y se secó para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. HPLC (Condición 7) $t_R = 8.54$ minutos, LC-MS (Condición 8) $t_R = 4.62$ minutos, $m/z = 300.9/302.9$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.77 -1.99 (m, 2 H), 3.57 (d, J = 11.54 Hz, 1 H), 3.72 (ddd, J = 11.11, 7.97, 3.26 Hz, 1 H), 3.78 (s, 3 H), 3.81 - 3.90 (m, 2 H), 4.26 - 4.39 (m, 1 H), 4.99 (br. s, 1 H), 8.11 (d, J = 2.01 Hz, 1 H), 8.56 (d, J = 1.76 Hz, 1 H).

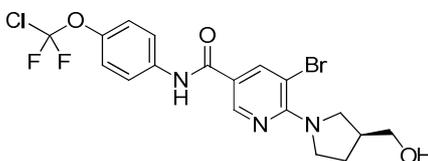
Ejemplo 10

(S)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Una mezcla de (S)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 10.1, 119 miligramos, 0.25 milimoles), 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (139 miligramos, 0.5 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.018 gramos, 0.025 milimoles), Na₂CO₃ (0.106 gramos, 1.000 milimoles), DME (1.061 mililitros), agua (0.303 mililitros), y EtOH (0.152 mililitros) se agregó a un frasco de microondas el cual se selló, se evacuó / purgó 3 veces con argón entonces se sujetó a irradiación de microondas a 125°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con DME (2 mililitros), y se agitó durante la noche con Si-Tiol (Silycicle 1.43 milimoles/gramo, 0.105 gramos, 0.150 milimoles). La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de PTFE de 0.45 micras, y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 12 gramos, ciclohexano / EtOAc del 20 por ciento al 90 por ciento de EtOAc), para proporcionar el intermediario protegido, el cual se trató con una mezcla de dicloro-metano (DCM) (2.5 mililitros), y ácido trifluoro-acético (TFA) (0.963 mililitros, 12.50 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se trató con una solución de NH₃ 7N en metanol (MeOH) (2 mililitros, 14 milimoles). El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna DEAP, isocrática 28 por ciento en 9 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un aceite color amarillo. UPLC-MS (Condición 1) $t_R = 1.87$ minutos, $m/z = 464.1$ $[M+H]^+$, $m/z = 462.1$ $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.49 -1.65 (m, 1 H) 1.75 -1.97 (m, 1 H) 2.14 -2.30 (m, 1 H) 3.04 (dd, J = 11.37, 6.97 Hz, 1 H) 3.14 - 3.26 (m, 2 H) 3.26 - 3.29 (m, 1 H) 3.35 - 3.46 (m, 2 H) 4.60 (t, J = 5.14 Hz, 1 H) 6.39 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 7.33 (d, J = 9.05 Hz, 2 H) 7.76 (br. s, 1 H) 7.84 - 7.94 (m, 2 H) 8.04 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 8.74 (s, 1 H) 10.18 (s, 1 H) 12.87 (br. s, 1 H).

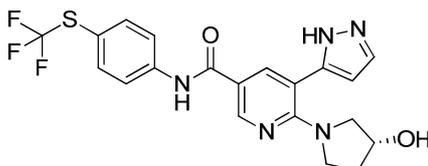
Etapa 10.1: (S)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 9.3), y (S)-1-pirrolidín-3-il-metanol (MeOH), para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.82$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.14$ minutos, $m/z = 476.2/478.3$ $[M+H]^+$.

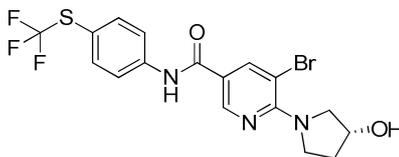
5 Ejemplo 11

(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidín-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida



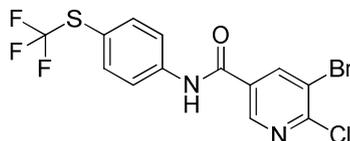
El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 9 utilizando (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidín-1-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 11.1), y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol para proporcionar un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.97$ minutos, $m/z = 450.2$ $[M+H]^+$, $m/z = 448.1$ $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.67 - 1.78 (m, 1 H) 1.78 - 1.88 (m, 1 H) 2.94 (d, J = 11.92 Hz, 1 H) 3.19 - 3.34 (m, 2 H) 3.38 - 3.50 (m, 1 H) 4.20 (br. s, 1 H) 4.81 - 4.93 (m, 1 H) 6.33 - 6.45 (m, 1 H) 7.83 (m, J = 113.40, 8.20 Hz, 3 H) 7.93 (d, J = 8.66 Hz, 2 H) 7.99 - 8.08 (m, 1 H) 8.70 - 8.81 (m, 1 H) 10.30 (s, 1 H) 12.90 - 13.16 (m, 1 H).

15 Etapa 11.1: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidín-1-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida



Se agregó DIPEA (73 microlitros, 0.42 milimoles) a una solución de 5-bromo-6-cloro-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 11.2, 123 miligramos, 0.3 milimoles), y (R)-pirrolidín-3-ol (31.4 miligramos, 0.36 milimoles) en iPrOH (300 microlitros) en un frasco, el cual se selló y se calentó a 140°C durante 1 hora. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se trituró con iPr_2O , se filtró, y se secó, para proporcionar el compuesto del título como un polvo cristalino blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.9$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.21$ minutos, $m/z = 464.1$ $[M+H]^+$.

Etapa 11.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida

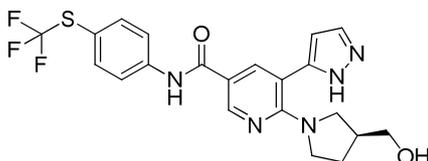


Se agregó DMF (0.12 mililitros), seguida por la adición lenta de $SOCl_2$ (0.73 mililitros, 10 milimoles) a una mezcla de ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico (473 miligramos, 2 milimoles) en tolueno (5 mililitros), y la mezcla de reacción entonces se agitó a 80°C durante 1 hora. Después de enfriarse a temperatura ambiente, el tolueno se evaporó bajo presión reducida y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (0.4 mililitros). Se agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.7 mililitros, 4 milimoles), y la solución se enfrió hasta 0°C bajo nitrógeno. Entonces se agregó por goteo 4-trifluoro-metil-sulfanil-anilina (438 miligramos, 2.2 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (1 mililitro), y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con el terbutil-metil-éter (TBME) (50 mililitros), se trató con HCl 1M y se extrajo con terbutil-metil-éter (TBME). Los extractos combinados se lavaron con NaOH 1M acuoso y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el producto se cristalizó a partir de terbutil-metil-éter (TBME) / n-hexano, para dar el compuesto del título como un

polvo cristalino muy blanco. HPLC (Condición 4) t_R = 6.63 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.33 minutos, m/z = 411.1 $[M+H]^+$.

Ejemplo 12

(S)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida

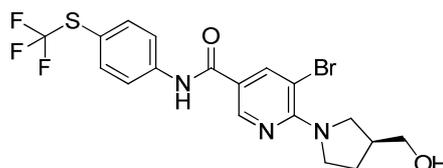


5

El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 10 utilizando (S)-5-bromo-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 12.1), y 1-(tetrahydro-2H-pirran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo amarillo pálido. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.99 minutos, m/z = 464.2 $[M+H]^+$, m/z = 462.2 $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.48 -1.64 (m, 1 H) 1.76 -1.93 (m, 1 H) 2.15 -2.27 (m, 1 H) 3.04 (dd, J = 11.49, 7.09 Hz, 1 H) 3.18 - 3.26 (m, 2 H) 3.27 - 3.29 (m, 1 H) 3.32 - 3.41 (m, 2 H) 4.60 (br. s, 1 H) 6.39 (d, J = 1.71 Hz, 1 H) 7.67 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.80 (br. s, 1 H) 7.87 - 7.99 (m, 2 H) 8.04 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 8.74 (br. s, 1 H) 10.28 (s, 1 H) 12.76 -13.20 (m, 1 H).

10

Etapa 12.1: (S)-5-bromo-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida



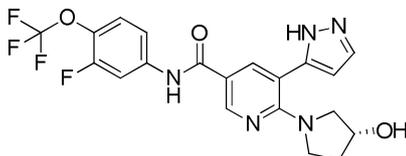
Se agregó DIPEA (4.89 mililitros, 28.0 milimoles) a una solución de 5-bromo-6-cloro-N-(4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 11.2, 2.88 gramos, 7.0 milimoles), y (S)-1-pirrolidin-3-il-metanol (MeOH) (1.156, 8.40 milimoles) en iPrOH (7.0 mililitros) en un frasco, el cual se selló y entonces se calentó a 140°C durante 1 hora. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con HCl acuoso 0.5M y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se trituró con iPr_2O , se filtró, y se secó para dar el compuesto del título como un polvo cristalino color beige. HPLC (Condición 4) t_R = 6.17 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.20 minutos, m/z = 476.2/478.2 $[M+H]^+$.

15

20

Ejemplo 13

(R)-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



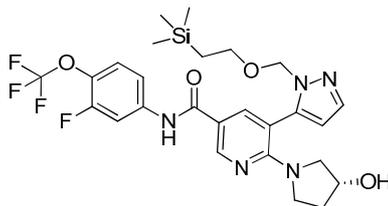
Una mezcla de (R)-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 13.1, 64 miligramos, 0.11 milimoles), etilen-diamina (37.2 microlitros, 0.55 milimoles), y TBFA 1M en tetrahidrofurano (THF) (1.651 mililitros, 1.651 milimoles) en un frasco de microondas se selló y se agitó a 80-85°C durante 20 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (40 mililitros), se lavó 3 veces con $NaHCO_3$ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna Diol, isocrática al 27 por ciento), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.95 minutos, m/z = 452.3 $[M+H]^+$, m/z = 450.3 $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.64 -1.78 (m, 1 H) 1.78 -1.89 (m, 1 H) 2.95 (d, J = 11.74 Hz, 1 H) 3.29 (br. s, 2 H)

25

30

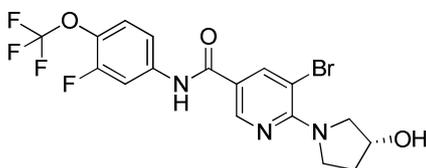
3.37 - 3.49 (m, 1 H) 4.20 (br. s, 1 H) 4.83 (br. s, 1 H) 6.35 - 6.42 (m, 1 H) 7.52 (t, J = 9.05 Hz, 1 H) 7.62 (d, J = 9.29 Hz, 1 H) 7.74 (br. s, 1 H) 7.98 (dd, J = 13.20, 2.20 Hz, 1 H) 8.02 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 8.74 (d, J = 1.71 Hz, 1 H) 10.31 (br. s, 1 H) 12.95 (br. s, 1 H).

5 Etapa 13.1: (R)-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



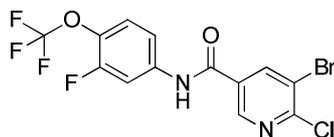
10 Una mezcla de (R)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 13.2, 100 miligramos, 0.215 milimoles), 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol (104 miligramos, 0.321 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (15.2 miligramos, 0.022 milimoles), Na₂CO₃ (91 miligramos, 0.862 milimoles), DME (914 microlitros), agua (261 microlitros), y EtOH (131 microlitros) en un frasco de microondas se selló, se evacuó / purgó 3 veces con argón y se sometió a irradiación de microondas a 125°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con DME (3 mililitros), entonces se agitó durante la noche con Si-Tiol (Silicycle 1.44 milimoles/gramo, 90 miligramos, 0.129 milimoles). La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de PTFE de 0.45 micras, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna DEAP, del 15 por ciento al 20 por ciento en 6 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un aceite transparente amarillo. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.28 minutos, m/z = 581.2 [M+H]⁺, m/z = 580.4 [M-H]⁻.

Etapa 13.2: (R)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



20 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 13.3), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 5.82 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.17 minutos, m/z = 464.1 [M+H]⁺.

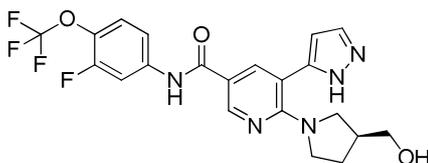
Etapa 13.3: 5-bromo-6-cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



25 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 3-fluoro-4-trifluoro-metoxi-anilina para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 6.43 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.29 minutos, m/z = 413 [M-H]⁻.

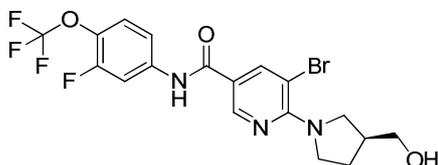
Ejemplo 14

30 (S)-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



- 5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 10 utilizando (S)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 14.1), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo amarillo pálido. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.96$ minutos, $m/z = 466.2$ $[M+H]^+$, $m/z = 464.2$ $[M-H]^-$. 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.77 (s, 3 H) 3.38 - 3.61 (m, 4 H) 4.61 (br. s, 1 H) 6.47 (s, 1 H) 7.68 (d, $J = 8.56$ Hz, 2 H) 7.83 (br. s, 1 H) 7.93 (d, $J = 8.80$ Hz, 2 H) 8.15 (br. s, 1 H) 8.71 (br. s, 1 H) 10.36 (s, 1 H) 12.83 -13.15 (m, 1 H).

Etapa 14.1: (S)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-(hidroxi-metil)-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



- 10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 13.3), y (S)-1-pirrolidin-3-il-metanol (MeOH), para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.99$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.18$ minutos, $m/z = 478.1/480.1$ $[M+H]^+$.

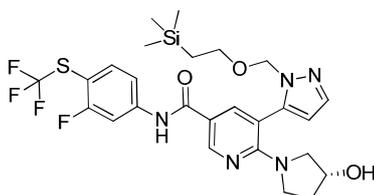
Ejemplo 15

- 15 (R)-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



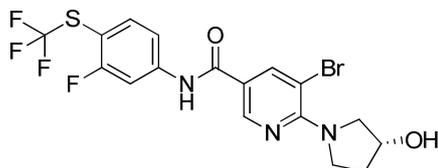
- 20 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 13 utilizando (R)-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 15.1), para proporcionar un sólido grisáceo. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.00$ minutos, $m/z = 468.3$ $[M+H]^+$, $m/z = 466.1$ $[M-H]^-$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.68 -1.78 (m, 1 H) 1.79 -1.89 (m, 1 H) 2.96 (d, $J = 11.74$ Hz, 1 H) 3.24 - 3.30 (m, 2 H) 3.40 - 3.49 (m, 1 H) 4.20 (d, $J = 2.20$ Hz, 1 H) 4.84 (br. s, 1 H) 6.38 (d, $J = 1.96$ Hz, 1 H) 7.66 - 7.78 (m, 3 H) 7.98 (dd, $J = 11.98, 1.96$ Hz, 1 H) 8.03 (d, $J = 2.45$ Hz, 1 H) 8.75 (d, $J = 2.45$ Hz, 1 H) 10.24 -10.72 (m, 1 H) 12.59 -13.22 (m, 1 H).

- 25 Etapa 15.1: (R)-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



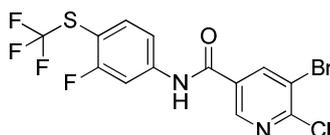
El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 13.1, utilizando (R)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 15.2), y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol para proporcionar una resina amarilla. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.33$ minutos, $m/z = 598.4$ $[M+H]^+$, $m/z = 596.5$ $[M-H]^-$.

5 Etapa 15.2: (R)-5-bromo-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 15.3), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.11$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.23$ minutos, $m/z = 480.1$ $[M+H]^+$.

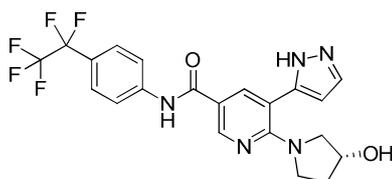
Etapa 15.3: 5-bromo-6-cloro-N-(3-fluoro-4-((trifluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida



15 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 3-fluoro-4-trifluoro-metil-sulfanil-anilina para proporcionar un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.71$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.34$ minutos, $m/z = 429$ $[M-H]^-$.

Ejemplo 16

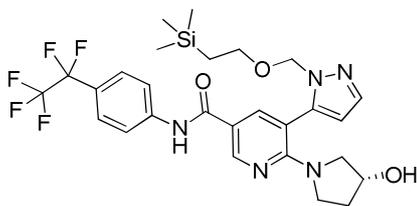
(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



20 Se agregó una mezcla de (R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 16.1, 68 miligramos, 0.114 milimoles), y etilendiamina (38.4 microlitros, 0.569 milimoles) en un frasco de microondas y se selló bajo una atmósfera de argón TBFA 1M en tetrahidrofurano (THF) (1.707 mililitros, 1.707 milimoles), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 20 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (40 mililitros), se lavó 3 veces con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna Diol, isocrática del 27 por ciento en 9 minutos), para proporcionar el compuesto del título como un sólido grisáceo. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.98$ minutos, $m/z = 468.2$ $[M+H]^+$, $m/z = 466.2$ $[M-H]^-$; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.68 -1.78 (m, 1 H) 1.83 (dd, J = 8.80, 4.40 Hz, 1 H) 2.96 (d, J = 11.74 Hz, 1 H) 3.19 - 3.29 (m, 2 H) 3.40 - 3.50 (m, 1 H) 4.20 (br. s, 1 H) 4.83 (br. s, 1 H) 6.39 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 7.65 (d, J = 8.80 Hz, 2 H) 7.77 (br. s, 1 H) 8.02 (d, J = 9.05 Hz, 2 H) 8.05 (d, J = 2.45 Hz, 1 H) 8.76 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 10.33 (s, 1 H) 12.91 (br. s, 1 H).

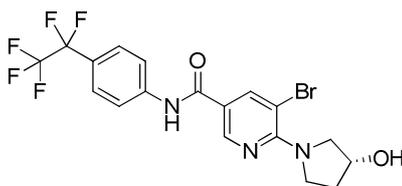
30

Etapa 16.1: (R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-5-(1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



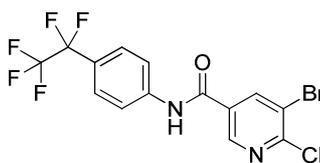
- Una mezcla de (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-nicotinamida (Etapa 16.2, 100 miligramos, 0.208 milimoles), 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-((2-(trimetil-silil)-etoxi)-metil)-1H-pirazol (135 miligramos, 0.416 milimoles), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (14.62 miligramos, 0.021 milimoles), Na₂CO₃ (88 miligramos, 0.833 milimoles), DME (883 microlitros), agua (252 microlitros), y EtOH (126 microlitros) en un frasco de microondas, el cual se selló, se evacuó / purgó 3 veces con argón y se sometió a irradiación de microondas a 125°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con 3 mililitros de DME, entonces se agitó con Si-Tiol (Silycicle 1.44 milimoles/gramo, 87 miligramos, 0.125 milimoles) durante la noche. La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de PTFE de 0.45 micras, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna Diol, del 15 por ciento al 20 por ciento en 6 minutos), para proporcionar el compuesto del título como una resina transparente incolora. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.31 minutos, m/z = 598.4 [M+H]⁺, m/z = 596.3 [M-H]⁻.

Etapa 16.2: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-nicotinamida



- El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-nicotinamida (Etapa 16.3), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 5.96 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.20 minutos, m/z = 480.2 [M+H]⁺.

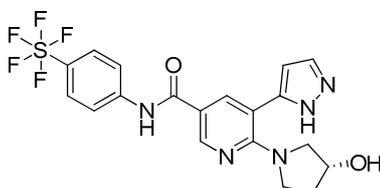
Etapa 16.3: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(perfluoro-etil)-fenil)-nicotinamida



- El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 4-pentafluoro-etil-anilina para proporcionar un sólido cristalino blanco. HPLC (Condición 4) t_R = 6.61 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.32 minutos, m/z = 429 [M-H]⁻.

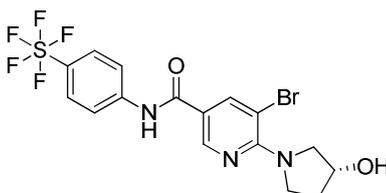
Ejemplo 17

(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(pentafluoro-sulfanil)-fenil)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



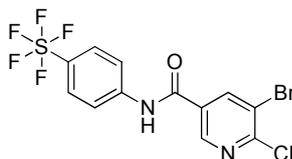
- 5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(pentafluoro-sulfanil)-fenil)-nicotinamida (Etapa 17.1), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un sólido color beige. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.68$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.92$ minutos, $m/z = 476.3$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.64 -1.91 (m, 2 H) 2.93 (d, J = 11.73 Hz, 1 H) 3.19 - 3.34 (m, 2 H) 3.36 - 3.49 (m, 1 H) 4.12 - 4.24 (m, 1 H) 4.81 (d, J = 3.13 Hz, 1 H) 6.38 (s, 1 H) 7.73 - 7.89 (m, 3 H) 7.92 - 8.09 (m, 3 H) 8.73 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 10.37 (s, 1 H) 12.82 -13.17 (m, 1 H).

Etapa 17.1: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(pentafluoro-sulfanil)-fenil)-nicotinamida



- 10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(pentafluoro-sulfanil)-fenil)-nicotinamida (Etapa 17.2), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.16$ minutos, $m/z = 490.1$ $[M+H]^+$.

Etapa 17.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(pentafluoro-sulfanil)-fenil)-nicotinamida



- 15 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y pentafluoruro de 4-amino-fenil-azufre para proporcionar un sólido color naranja. HPLC (Condición 4), $t_R = 6.43$ minutos, UPLC-MS (Condición 3), $t_R = 1.27$ minutos, $m/z = 435.3/437.2$ $[M+H]^+$.

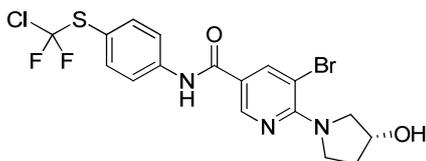
Ejemplo 18

(R)-N-(4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



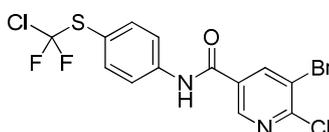
- 20 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-5-bromo-N-(4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 18.1), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un sólido grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.94$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.99$ minutos, $m/z = 466.3$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.65 -1.88 (m, 2 H) 2.86 -2.99 (m, 1 H) 3.19 - 3.33 (m, 2 H) 3.36 - 3.51 (m, 1 H) 4.13 - 4.23 (m, 1 H) 4.76 - 4.90 (m, 1 H) 6.31 - 6.42 (m, 1 H) 7.65 (d, J = 8.21 Hz, 2 H) 7.76 - 7.84 (m, 1 H) 7.92 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.98 - 8.08 (m, 1 H) 8.66 - 8.82 (m, 1 H) 10.28 (s, 1 H) 12.82 -13.14 (m, 1 H).

Etapa 18.1: (R)-5-bromo-N-(4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



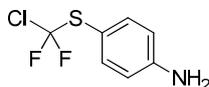
5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida (Etapa 18.2), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.97$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.19$ minutos, $m/z = 478.2/480.1$ $[M+H]^+$.

Etapa 18.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-fenil)-nicotinamida



10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 4-((cloro-difluoro-metil)-tio)-anilina (Etapa 18.3), para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.78$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.32$ minutos, $m/z = 425$ $[M-H]^-$.

Etapa 18.3: 4-((Cloro-difluoro-metil)-tio)-anilina

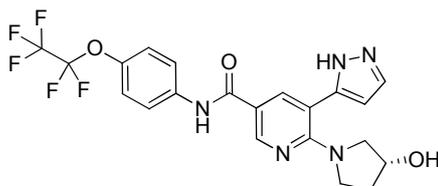


15 A una solución de sulfuro de 4-nitro-fenilcloro-difluoro-metilo (preparado, como se describe en DE2845997, 627, 67.5 gramos, 0.28 moles) en etanol (270 mililitros), y agua (68 mililitros) se agitó a 72°C, se le agregó HCl concentrado (3.4 mililitros, 41.5 milimoles), y polvo de hierro (203 gramos, 3.63 moles) en tres porciones durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó a 82°C durante 30 minutos, se filtró a través de Celite® (EtOH), el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un aceite amarillo, el cual se disolvió en dicloro-metano (DCM), y se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, y el filtrado se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo como un aceite amarillo, el cual se destiló (b.p. 88-92°C, 0.9 mm Hg), y se filtró a través de Celite® para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 3.98 (br. s, 2 H) 6.67 (dd, 2 H) 7.43 (dd, 2 H).

20

Ejemplo 19

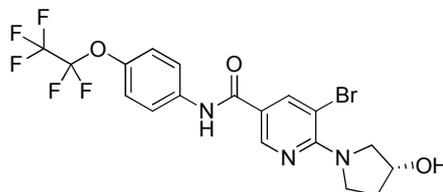
(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etoxi)-fenil)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



25 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 19.1), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un sólido grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.86$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.97$ minutos, $m/z = 484.4$ $[M+H]^+$; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.62 -1.92 (m, 2 H) 2.94 (d, J = 1.00 Hz, 1 H) 3.18 - 3.34 (m, 2 H) 3.37 - 3.51 (m, 1 H) 4.13 - 4.22 (m, 1 H) 4.70 -

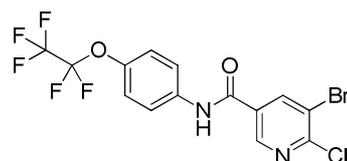
4.91 (m, 1 H) 6.37 (br. s, 1 H) 7.31 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.86 (m, J = 9.00 Hz, 3 H) 8.01 (br. s, 1 H) 8.65 - 8.83 (m, 1 H) 10.17 (s, 1 H) 12.84 -13.11 (m, 1 H).

Etapa 19.1: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(perfluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida



- 5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.2 utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(perfluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 19.2), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.01$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.17$ minutos, $m/z = 496.2$ $[M+H]^+$.

Etapa 19.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(perfluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida



10

El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.3 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 4-(perfluoro-etoxi)-anilina para proporcionar un sólido cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.73$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.30$ minutos, $m/z = 443.1$ $[M-H]^-$.

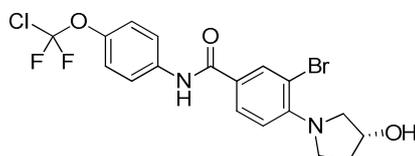
Ejemplo 20

- 15 (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3-(1H-pirazol-5-il)-benzamida



- 20 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-benzamida (Etapa 20.1), y pinacol-éster de ácido 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-borónico para proporcionar un sólido grisáceo. UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.99$ minutos, $m/z = 449.0$ $[M+H]^+$, $m/z = 493.0$ $[M+\text{fórmico ácido-H}]^-$; ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.67 - 1.79 (m, 1 H) 1.80 - 1.92 (m, 1 H) 2.72 (d, J = 10.88 Hz, 1 H) 3.03 - 3.18 (m, 2 H) 3.19 - 3.30 (m, 1 H) 4.19 (br. s, 1 H) 4.77 - 4.92 (m, 1 H) 6.22 - 6.42 (m, 1 H) 6.76 - 6.93 (m, 1 H) 7.31 (d, J = 8.56 Hz, 2 H) 7.45 - 7.81 (m, 1 H) 7.83 - 7.95 (m, 4 H) 10.12 (s, 1 H) 12.71 - 13.12 (m, 1 H).

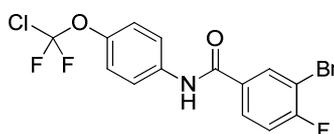
Etapa 20.1: (R)-3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-benzamida



25

Una mezcla de 3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-fluoro-benzamida (1 gramo, 2.53 milimoles), (R)-pirrolidin-3-ol (0.331 gramos, 3.80 milimoles), trietil-amina (0.706 mililitros, 5.07 milimoles), y sulfóxido de dimetilo (DMSO) (2.53 mililitros) se agitó a 90°C durante 20 horas. La mezcla de reacción se trató con HCl 0.5M (50 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con HCl 0.5M, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 40 gramos, ciclohexano / EtOAc, del 1 por ciento al 4.5 por ciento de EtOAc). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se trituró bajo ciclohexano, para proporcionar el producto del título como un sólido blanco amorfo. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.15 minutos, m/z = 462.9 [M+H]⁺, m/z = 460.9 [M-H]⁻; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.81 -1.90 (m, 1 H) 1.92 -2.03 (m, 1 H) 3.27 (dd, J = 10.39, 1.10 Hz, 1 H) 3.36 - 3.44 (m, 1 H) 3.62 - 3.71 (m, 1 H) 3.81 (dd, J = 10.45, 4.71 Hz, 1 H) 4.32 - 4.40 (m, 1 H) 4.99 (d, J = 3.42 Hz, 1 H) 6.93 (d, J = 8.80 Hz, 1 H) 7.33 (d, J = 9.05 Hz, 2 H) 7.82 - 7.91 (m, 3 H) 8.14 (d, J = 2.20 Hz, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

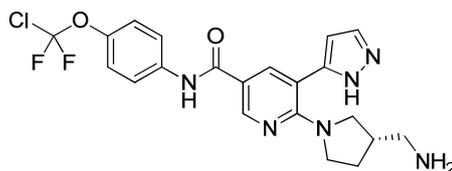
Etapa 20.2: 3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-fluoro-benzamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 1.3 utilizando ácido 3-bromo-4-fluoro-benzoico y 4-(cloro-difluoro-metoxi)-anilina para proporcionar un sólido grisáceo. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.25 minutos, m/z = 394.0 [M+H]⁺, m/z = 391.9 [M-H]⁻; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.37 (d, J = 9.17 Hz, 2 H) 7.57 (t, J = 8.68 Hz, 1 H) 7.84 - 7.91 (m, 2 H) 8.03 (ddd, J = 8.62, 4.83, 2.32 Hz, 1 H) 8.32 (dd, J = 6.60, 2.20 Hz, 1 H) 10.52 (s, 1 H).

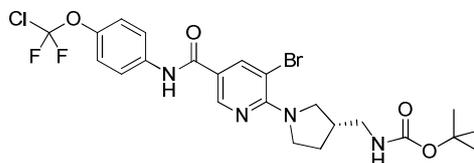
Ejemplo 21

(S)-6-(3-(amino-metil)-pirrolidin-1-il)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (S)-((1-(3-bromo-5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-il)-metil)-carbamato de terbutilo (Etapa 21.1), y 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 4.15 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.78 minutos, m/z = 463.1 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.50 -1.62 (m, 1 H) 1.91 (d, J = 6.26 Hz, 1 H) 2.27 (s, 1 H) 2.72 (d, J = 7.04 Hz, 2 H) 3.04 - 3.16 (m, 3 H) 3.30 (br. s, 2 H) 3.47 (dd, J = 11.34, 7.04 Hz, 1 H) 6.38 (d, J = 1.96 Hz, 2 H) 7.31 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.64 - 7.91 (m, 2 H) 8.05 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 8.72 (d, J = 1.95 Hz, 1 H) 10.19 (s, 1 H) 12.86 - 13.01 (m, 1 H).

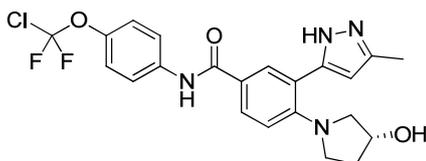
Etapa 21.1: (S)-((1-(3-bromo-5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-il)-metil)-carbamato de terbutilo



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 8.1, utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 9.3), y terbutil-éster del ácido (R)-1-pirrolidin-3-il-metil-carbámico para proporcionar un sólido cristalino. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.09$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.36$ minutos, $m/z = 577.2$ $[M+H]^+$.

5 Ejemplo 22

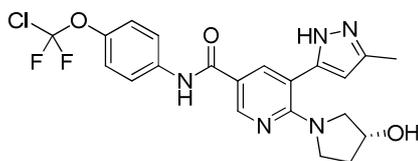
(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-benzamida



Se agregaron 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (Etapa 23.1, 128 miligramos, 0.329 milimoles), K_3PO_4 (140 miligramos, 0.658 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (15.22 miligramos, 0.013 milimoles) a una solución de (R)-3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-benzamida (Etapa 20.1, 80 miligramos, 0.165 milimoles) en tolueno (1.5 mililitros), bajo una atmósfera de argón, y la mezcla de reacción se calentó a $110^\circ C$ durante 2 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (4 mililitros), y se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.507 mililitros, 6.58 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se trató con Na_2CO_3 saturado acuoso (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante HPLC de preparación (Condición del 10 – 20 por ciento al 80 por ciento de B en 20 minutos). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se trataron con Na_2CO_3 saturado acuoso y el MeCN se evaporó bajo presión reducida. El residuo acuoso se extrajo con dicloro-metano (DCM), y los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y el filtrado se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se cristalizó a partir de dicloro-metano (DCM) / n-hexano, para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) $t_R = 6.41$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.03$ minutos, $m/z = 463$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.67 -1.78 (m, 1 H) 1.84 (s, 1 H) 2.16 -2.30 (m, 3 H) 2.74 (d, J = 10.56 Hz, 1 H) 3.04 - 3.33 (m, 3 H) 4.14 - 4.23 (m, 1 H) 4.76 - 4.87 (m, 1 H) 6.07 (s, 1 H) 6.73 - 6.86 (m, 1 H) 7.29 (d, J = 8.21 Hz, 2 H) 7.78 - 7.90 (m, J = 8.99 Hz, 4 H) 10.07 (s, 1 H) 12.34 -12.56 (m, 1 H).

Ejemplo 23

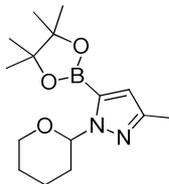
(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregaron 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (Etapa 23.1, 150 miligramos, 0.359 milimoles), K_3PO_4 (147 miligramos, 0.692 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (15.98 miligramos, 0.014 milimoles) a una solución de (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2, 80 miligramos, 0.173 milimoles) en tolueno (1.5 mililitros), bajo una atmósfera de argón, y la mezcla de reacción se agitó a $110^\circ C$ durante 2 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (1.5 mililitros), se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.533 mililitros, 6.92 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se trató con Na_2CO_3 saturado acuoso (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar al producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) a partir de 99:1 a 92:8) y se cristalizó a partir de dicloro-metano (DCM) / n-hexano, para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) $t_R = 5.92$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.94$ minutos, $m/z = 464.1$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.67 -1.89 (m, 2 H) 2.19 -2.31 (m, 3 H) 2.98 (d, J = 10.95 Hz, 1 H) 3.24 - 3.35 (m, 2 H) 3.39 - 3.52 (m, 1 H) 4.16 - 4.25 (m, 1 H) 4.80 - 4.90 (m, 1 H) 6.11 - 6.17 (m, 1

H) 7.32 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.87 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.97 - 8.06 (m, 1 H) 8.66 - 8.78 (m, 1 H) 10.16 (s, 1 H) 12.51 - 12.70 (m, 1 H).

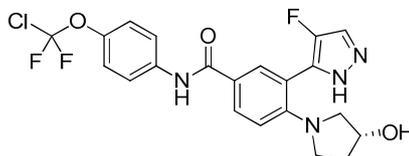
Etapá 23.1: 3-metil-1-(tetrahidro-2H-pirán-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol



- 5 Una mezcla de 3-metil-pirazol (3.0 gramos, 35.4 milimoles), 3,4-dihidro-2H-pirano (4.97 mililitros, 53.2 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (0.02 mililitros, 0.260 milimoles), se agitó a 85°C durante 6 horas bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se agregó NaH 60 por ciento en aceite mineral (0.061 gramos, 1.524 milimoles) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos. La mezcla de reacción se purificó mediante destilación de bulbo a bulbo para dar el 3-metil-1-(tetrahidro-2H-pirán-2-il)-1H-pirazol (b.p. 150-170°C/ 12 mbar). Se agregó una solución de n-BuLi en n-hexano (3.38 mililitros de 1.6 M, 5.41 milimoles) por goteo durante 10 minutos a una solución de 3-metil-1-(tetrahidro-2H-pirán-2-il)-1H-pirazol (1.0 gramo, 5.41 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (12 mililitros) a -70°C bajo una atmósfera de nitrógeno, y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos, y entonces se trató por goteo con 2-metoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (0.898 gramos, 5.69 milimoles), y se agitó a -70°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se trató con n-hexano y el producto se filtró, se disolvió en agua (10 mililitros), y se acidificó a un pH de 6 con ácido cítrico acuoso (10 por ciento). El agua se evaporó bajo presión reducida, y el residuo acuoso se extrajo con EtOAc, se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto del título como una resina amarilla. UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.56 minutos, m/z = 211.2 [M+H]⁺.

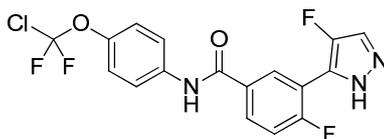
Ejemplo 24

- 20 (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-3-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-4-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-benzamida



- Una mezcla de N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-fluoro-3-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-benzamida (Etapá 24.1, 62 miligramos, 0.147 milimoles), R-3-hidroxi-pirrolidina (0.031 mililitros, 0.206 milimoles), y trietil-amina (0.062 mililitros, 0.442 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (0.5 mililitros) se agitó a 100°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (30 mililitros), se trató con Na₂CO₃ saturado acuoso (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con agua (20 mililitros), y salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante HPLC de preparación (Condición 10). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se trataron con Na₂CO₃ saturado acuoso y el MeCN se removió bajo presión reducida. El residuo acuoso se extrajo con dicloro-metano (DCM), y los extractos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM), y se trató con n-hexano, para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 6.61 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.01 minutos, m/z = 467.3 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.69 - 1.95 (m, 2 H) 2.79 (d, J = 10.56 Hz, 1 H) 3.06 - 3.20 (m, 2 H) 3.22 - 3.35 (m, 1 H) 4.13 - 4.30 (m, 1 H) 4.79 - 4.96 (m, 1 H) 6.75 - 6.92 (m, 1 H) 7.31 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.86 (m, J = 9.38 Hz, 5 H) 10.11 (s, 1 H) 12.67 - 13.12 (m, 1 H).

Etapá 24.1: N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-fluoro-3-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-benzamida



Una mezcla de 3-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-4-fluoro-benzamida (Etapa 20.2, 200 miligramos, 0.497 milimoles), 4-fluoro-5-(tributil-estanol)-1H-pirazol (211 miligramos, 0.472 milimoles), y Pd(PPh₃)₄ (28,7 miligramos, 0.025 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (1.5 mililitros) en un frasco sellado se agitó a 100°C durante 20 horas bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (30 mililitros), se trató con Na₂CO₃ saturado acuoso (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con agua (20 mililitros), y salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos, n-hexano / EtOAc, de 95:5 a 6:4), para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 7.20 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.12 minutos, m/z = 400.1 [M+H]⁺.

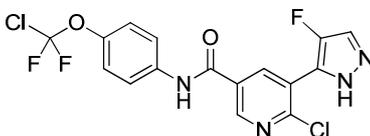
Ejemplo 25

(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



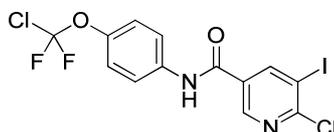
El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 5 utilizando 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 25.1), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un polvo blanco. HPLC (Condición 4) t_R = 4.89 minutos, HPLC Quiral (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente : n-heptano/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 mililitro/minuto, Ultravioleta de 210 nanómetros) t_R = 9.34 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.96 minutos, m/z = 468.1 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.67 - 1.92 (m, 2 H) 3.00 (d, J = 11.73 Hz, 1 H) 3.19 - 3.33 (m, 2 H) 3.43 (m, J = 7.00 Hz, 1 H) 4.22 (br. s, 1 H) 4.87 (br. s, 1 H) 7.31 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.85 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.90 - 8.10 (m, 2 H) 8.77 (br. s, 1 H) 10.18 (s, 1 H) 12.83 - 13.19 (m, 1 H).

Etapa 25.1: 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 13.1, utilizando 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-yodo-nicotinamida (Etapa 25.2), y 4-fluoro-5-(tributil-estanol)-1H-pirazol para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 5.69 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.09 minutos, m/z = 415 [M-H]⁻; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm.

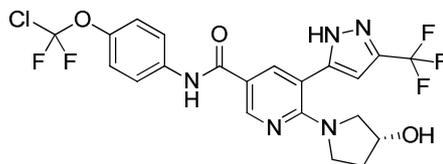
Etapa 25.2: 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-yodo-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 11.2 utilizando ácido 6-cloro-5-yodo-nicotínico y 4-(cloro-difluoro-metoxi)-anilina para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) t_R = 6.47 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.26 minutos, m/z = 456.8 $[M-H]^-$.

Ejemplo 26

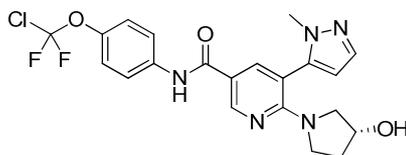
5 (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(3-(trifluoro-metil)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregaron K_3PO_4 (135 miligramos, 0.635 milimoles), ácido 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-3-(trifluoro-metil)-1H-pirazol-5-il-borónico (112 miligramos, 0.424 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (12.24 miligramos, 10.59 micromoles) a una solución de (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2, 100 miligramos, 0.212 milimoles) en tolueno (2 mililitros), y la mezcla de reacción se agitó a 110°C durante 2 horas bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se filtró a través de Hyflo®, se lavó con agua, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos, dicloro-metano (DCM) / EtOH a partir de 99:1 a 94:6). El intermediario resultante se disolvió en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.462 mililitros, 5.99 milimoles), y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 mililitros), se trató con Na_2CO_3 saturado acuoso (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 4 gramos, dicloro-metano (DCM) / EtOH a partir de 99:1 a 9:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se trituró en dicloro-metano (DCM) / n-hexano, se filtró, y se secó para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 6.545 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.10 minutos, m/z = 518.1 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.71 -1.95 (m, 2 H) 2.94 (d, J = 11.34 Hz, 1 H) 3.24 (m, 2 H) 3.44 (m, 1 H) 4.17 -4.32 (m, 1 H) 4.91 (br. s, 1 H) 6.88 (s, 1 H) 7.34 (d, J = 8.21 Hz, 2 H) 7.86 (d, J = 9.38 Hz, 2 H) 8.12 (s, 1 H) 8.81 (s, 1 H) 10.17 (s, 1 H) 13.94 (s, 1 H).

Ejemplo 27

(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 2.1, utilizando (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2), y 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo blanco. HPLC (Condición 4) t_R = 5.25 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.98 minutos, m/z = 464.1 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.65 -1.89 (m, 2 H) 2.87 - 3.00 (m, 1 H) 3.09 - 3.29 (m, 3 H) 3.59 (s, 3 H) 4.19 (br. s, 1 H) 4.87 (d, J = 3.13 Hz, 1 H) 6.39 (s, 1 H) 7.27 - 7.36 (m, 2 H) 7.50 (dd, J = 1.76, 0.98 Hz, 1 H) 7.78 - 7.88 (m, 2 H) 8.00 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 8.78 (dd, J = 2.35, 1.17 Hz, 1 H) 10.15 (s, 1 H).

Ejemplo 28

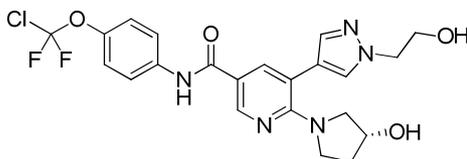
(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-metil-1H-pirazol-3-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 2.1, utilizando (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2), y 1-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.16$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.98$ minutos, $m/z = 464 [M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.64 - 1.90 (m, 2 H) 2.85 - 3.00 (m, 1 H) 3.06 - 3.26 (m, 3 H) 3.59 (s, 3 H) 4.19 (br. s, 1 H) 4.87 (d, $J = 2.74$ Hz, 1 H) 6.39 (s, 1 H) 7.31 (d, $J = 8.60$ Hz, 2 H) 7.50 (dd, $J = 1.76, 0.98$ Hz, 1 H) 7.84 (d, $J = 8.60$ Hz, 2 H) 8.01 (d, $J = 2.74$ Hz, 1 H) 8.78 (dd, $J = 2.54, 0.98$ Hz, 1 H) 10.15 (s, 1 H).

Ejemplo 29

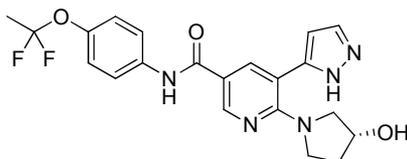
(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(1-(2-hidroxi-etil)-1H-pirazol-4-il)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



Se agregó Na_2CO_3 2M (0.375 mililitros, 0.75 milimoles) a una solución de (R)-5-bromo-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 9.2, 116 miligramos, 0.25 milimoles), y 1-(2-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)-etil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (161 miligramos, 0.5 milimoles) en DME (1.0 mililitros), bajo una atmósfera de argón. Entonces se agregó $PdCl_2(dppf)$ (9.15 miligramos, 0.013 milimoles) y la mezcla de reacción se agitó a $100^\circ C$ durante 2 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, y se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El producto crudo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (1.4 mililitros) enfriado hasta $0^\circ C$, entonces se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.77 mililitros, 10 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió en Na_2CO_3 acuoso al 10 por ciento (15 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / MeOH, del 2 por ciento al 10 por ciento de MeOH), para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.33$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.88$ minutos, $m/z = 494 [M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.67 - 1.88 (m, 2 H) 2.96 (d, $J = 11.73$ Hz, 0 H) 3.24 - 3.37 (m, 2 H) 3.41 - 3.53 (m, 1 H) 3.75 (q, $J = 5.73$ Hz, 2 H) 4.04 - 4.25 (m, 4 H) 4.81 (d, $J = 3.52$ Hz, 1 H) 4.86 - 4.94 (m, 1 H) 7.31 (d, $J = 8.21$ Hz, 2 H) 7.53 - 7.59 (m, 1 H) 7.79 - 7.89 (m, 3 H) 7.93 (d, $J = 2.35$ Hz, 1 H) 8.65 (dd, $J = 2.35, 0.78$ Hz, 1 H) 10.15 (s, 1 H).

Ejemplo 30

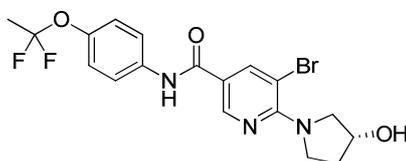
(R)-N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregaron K_3PO_4 (113 miligramos, 0.532 milimoles), 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (99 miligramos, 0.355 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (10.24 miligramos, 8.86 micromoles) a una solución de (R)-5-bromo-N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 30.1, 80 miligramos, 0.177 milimoles) en tolueno (1.5 mililitros), bajo una atmósfera de argón, y la mezcla de reacción se agitó a $110^\circ C$ durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 mililitros) se trató con solución saturada de $NaHCO_3$ (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 mililitros), se secaron con Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el

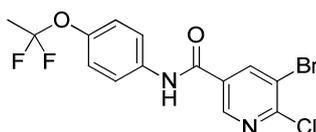
5 cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos de dicloro-metano (DCM) / EtOH de 97:3 a 95:5), para proporcionar N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (66 miligramos, 0.129 milimoles), la cual se disolvió en dicloro-metano (DCM) (1.5 mililitros), y se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (0.546 mililitros, 7.09 milimoles), y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 mililitros), se trató con solución saturada de NaHCO₃ (25 mililitros), y se extrajo con EtOAc (20 mililitros). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 mililitros), se secaron sobre Na₂SO₄, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante HPLC de preparación (Condición 10). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se trataron con 0.5 gramos de NaHCO₃ y el MeCN se evaporó bajo presión reducida. El residuo acuoso se extrajo con dicloro-metano (DCM), para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 5.42 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.82 minutos, m/z = 430.1 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.68 -1.87 (m, 2 H) 1.93 (t, J = 13.67 Hz, 3 H) 2.94 (d, J = 11.71 Hz, 1 H) 3.15 - 3.33 (m, 2 H) 3.38 - 3.48 (m, 1 H) 4.19 (br. s, 1 H) 6.37 (s, 1 H) 7.15 (d, J = 9.37 Hz, 2 H) 7.65 - 7.83 (m, J = 9.37 Hz, 3 H) 8.03 (d, J = 2.34 Hz, 1 H) 8.73 (d, J = 2.34 Hz, 1 H).

15 Etapa 30.1: (R)-5-bromo-N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



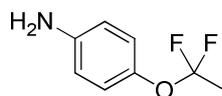
20 Una mezcla de 5-bromo-6-cloro-N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 30.2, 700 miligramos, 1.752 milimoles), (R)-pirrolidin-3-ol (0.170 mililitros, 2.102 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.673 mililitros, 3.85 milimoles), y iPrOH (2 mililitros) en un frasco sellado se calentó a 120°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (80 mililitros), se trató con el ácido cítrico al 10 por ciento (40 mililitros; aproximadamente pH de 4), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (40 mililitros, 2 veces), se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se lavó con Et₂O y n-hexano y los cristales se secaron, para dar el producto del título como un sólido color beige. HPLC (Condición 5) t_R = 6.4 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.02 minutos, m/z = 442.1/ 444.0 [M+H]⁺.

25 Etapa 30.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(1,1-difluoro-etoxi)-fenil)-nicotinamida



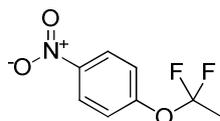
30 Se agregó cloruro de oxalilo (653 microlitros, 7.46 milimoles) a una mezcla de ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico (1.2 gramos, 4.97 milimoles), y N,N-dimetil-formamida (DMF) (20 microlitros, 0.258 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (40 mililitros), bajo una atmósfera de nitrógeno, y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El solvente se evaporó, el residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (10 mililitros), y se evaporó nuevamente a sequedad. El residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (30 mililitros), se agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.737 mililitros, 9.95 milimoles), y la mezcla de reacción se enfrió a -15°C. Se agregó 4-(1,1-difluoro-etoxi)-anilina (Etapa 30.3, 0.932 gramos, 5.22 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros) por goteo en un periodo de 15 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se diluyó con EtOAc (100 mililitros), se trató con ácido cítrico al 10 por ciento (60 mililitros) y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con Na₂CO₃ saturado acuoso (50 mililitros), y salmuera (50 mililitros, 2 veces), se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se secó en n-hexano, se filtró, y se secó para dar el producto del título como un sólido color beige. HPLC (Condición 5) t_R = 7.3 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.16 minutos, m/z = 391/393 [M+H]⁺.

40 Etapa 30.3: 4-(1,1-difluoro-etoxi)-anilina



Una solución de 1-(1,1-difluoro-etoxy)-4-nitro-benceno (Etapa 30.4, 2.95 gramos, 13.94 milimoles) en EtOH (100 mililitros) se hidrogenó (Raney Ni 1.0 gramos; 26.5 horas a temperatura ambiente). La mezcla de reacción se filtró a través de Hyflo® y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto del título crudo como un aceite color café. HPLC (Condición 5) $t_R = 4.5$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.74$ minutos, $m/z = 174.1$ $[M+H]^+$.

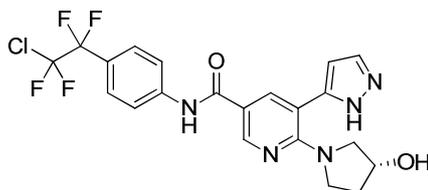
Etapa 30.4: 1-(1,1-difluoro-etoxy)-4-nitro-benceno



Se agregaron 4-nitro-acetofenona (2.45 gramos, 14.54 milimoles), y HF-piridina (10.11 mililitros, 116 milimoles) a una mezcla de XeF2 (4.92 gramos, 29.1 milimoles), y dicloro-metano (DCM) (50 mililitros) en un frasco de plástico y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se le agregó cuidadosamente, a una mezcla agitada de EtOAc (150 mililitros), y NaHCO₃ saturado (250 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 mililitros, 2 veces), se secaron sobre Na₂SO₄, y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 40 gramos, n-hexano / EtOAc (95:5)), para dar el producto del título como un aceite color amarillo. HPLC (Condición 5) $t_R = 6.9$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.05$ minutos.

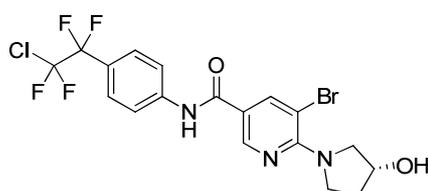
Ejemplo 31

(R)-N-(4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



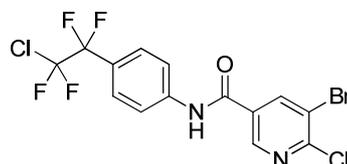
El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-5-bromo-N-(4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida (Etapa 31.1), y 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.89$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.98$ minutos, $m/z = 484.1$ $[M+H]^+$; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.65 - 1.89 (m, 2 H) 2.83 - 2.98 (m, 1 H) 3.18 - 3.33 (m, 2 H) 3.36 - 3.49 (m, 1 H) 4.13 - 4.24 (m, 1 H) 4.77 - 4.93 (m, 1 H) 6.31 - 6.43 (m, 1 H) 7.62 (d, J = 8.59 Hz, 2 H) 7.77 - 7.84 (m, 1 H) 7.91 - 8.09 (m, 3 H) 8.64 - 8.81 (m, 1 H) 10.31 (s, 1 H) 12.83 - 12.96 (m, 1 H).

Etapa 31.1: (R)-5-bromo-N-(4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 8.1, utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-fenil)-nicotinamida (Etapa 31.2), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un polvo blanco. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.05$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.18$ minutos, $m/z = 498 [M+H]^+$.

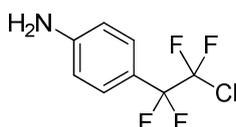
Etapa 31.2: 5-bromo-6-cloro-N-(4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-fenil)-nicotinamida



5

El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.3 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-anilina (Etapa 31.3), para proporcionar un polvo cristalino color beige. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.77$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.31$ minutos, $m/z = 444.8 [M+H]^+$.

10 Etapa 31.3: 4-(2-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-etil)-anilina



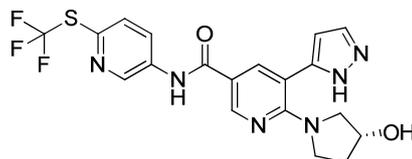
15 Se agregó $Ni(PPh_3)_4$ (222 miligramos, 0.2 milimoles) a una mezcla de anilina (745 miligramos, 8 milimoles), y 1-cloro-1,1,2,2-tetrafluoro-2-yodo-etano (1049 miligramos, 4 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (10 mililitros) en un frasco de microondas bajo una atmósfera de argón. El frasco se selló, y la mezcla de reacción se agitó durante dos días a $80^\circ C$. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en Et₂O, se lavó con $NaHCO_3$ al 10 por ciento, y salmuera, se secó sobre $MgSO_4$ y el solvente se evaporó bajo presión reducida para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, n-heptano / EtOAc, del 0 al 25 por ciento de EtOAc), y además mediante cromatografía en fase inversa (MPLC, columna Lichroprep® de 15-25 micras, eluyentes: agua + ácido fórmico al 0.1 por ciento / MeCN + ácido fórmico al 0.1 por ciento, gradiente del 10 al 50 por ciento de MeCN + ácido fórmico al 0.1 por ciento). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y el MeCN se evaporó bajo presión reducida, para dar una fase acuosa, la cual se neutralizó con $NaHCO_3$ y se extrajo con Et₂O. Los extractos combinados se secaron sobre $MgSO_4$ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para proporcionar el compuesto del título como un aceite color rojo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.48$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.04$ minutos, $m/z = 269 [M+H]^+$.

20

25

Ejemplo 32

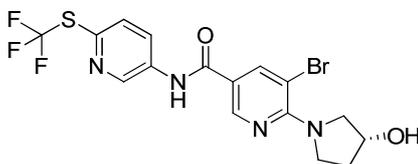
(R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-N-(6-((trifluoro-metil)-tio)-piridin-3-il)-nicotinamida



30 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(6-((trifluoro-metil)-tio)-piridin-3-il)-nicotinamida (Etapa 32.1), y 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.18$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.82$ minutos, $m/z = 451.3 [M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.64 -1.89 (m, 2 H) 2.94 (d, J = 11.73 Hz, 1 H) 3.18 - 3.33 (m, 2 H) 3.36 - 3.49 (m, 1 H) 4.18 (br. s, 1 H) 4.81 (d, J = 3.13 Hz, 1 H) 6.38 (s, 1 H) 7.68 - 7.85 (m, 2 H) 8.02 (d, J = 1.95 Hz, 1 H) 8.32 (dd, J = 8.60, 2.35 Hz, 1 H) 8.73 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 8.98 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 10.42 (s, 1 H) 12.89 -13.12 (m, 1 H).

35

Etapa 32.1: (R)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(6-((trifluoro-metil)-tio)-piridin-3-il)-nicotinamida



5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 8.1, utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(6-((trifluoro-metil)-tio)-piridin-3-il)-nicotinamida (Etapa 32.2), y (R)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.53$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.01$ minutos, $m/z = 463.1$ $[M+H]^+$.

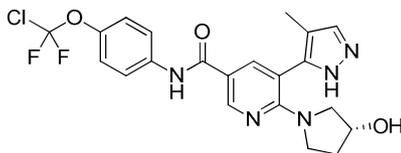
Etapa 32.2: 5-bromo-6-cloro-N-(6-((trifluoro-metil)-tio)-piridin-3-il)-nicotinamida



10 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 9.3 utilizando ácido 5-bromo-6-cloro-nicotínico y 6-(trifluoro-tiometil)-piridin-3-amina, para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.43$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.15$ minutos, $m/z = 411.9$ $[M-H]^-$.

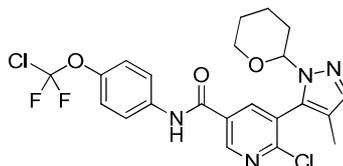
Ejemplo 33

(R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(4-metil-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



15 Se agregó DIPEA (77 microlitros, 0.44 milimoles) a una solución de 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 33.1, 99 miligramos, 0.2 milimoles), y (R)-pirrolidin-3-ol (20.9 miligramos, 0.24 milimoles) en iPrOH (200 microlitros) en un frasco, el cual se selló, y la mezcla de reacción mezcla se agitó a 140°C durante 1.5 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (1.1 mililitros), se enfrió a 0°C, se trató con ácido trifluoroacético (TFA) (0.616 mililitros, 8 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió en Na_2CO_3 acuoso al 10 por ciento (10 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) del 2 por ciento al 10 por ciento de MeOH), para proporcionar el compuesto del título como un polvo color beige. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.79$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.95$ minutos, $m/z = 464$ $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.63 -1.92 (m, 5 H) 2.81 -2.96 (m, 1 H) 3.05 - 3.41 (m, 3 H) 4.17 (br. s, 1 H) 4.81 (br. s, 1 H) 7.30 (d, J = 8.60 Hz, 2 H) 7.58 (s, 1 H) 7.79 - 8.02 (m, 3 H) 8.73 (s, 1 H) 10.15 (s, 1 H) 12.58 - 12.85 (m, 1 H).

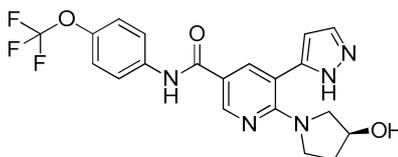
30 Etapa 33.1: 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregaron K_3PO_4 (191 miligramos, 0.9 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (17.33 miligramos, 0.015 milimoles) a una solución de 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-yodo-nicotinamida (Etapa 25.2, 138 miligramos, 0.3 milimoles), y 4-metil-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (131 miligramos, 0.45 milimoles) en tolueno (1.5 mililitros), bajo una atmósfera de argón en un frasco, el cual se selló y se calentó a $110^\circ C$ durante 18 horas. La mezcla de reacción se vertió en 20 mililitros de agua, y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, n-heptano / EtOAc, del 5 al 50 por ciento de EtOAc), y se cristalizó a partir de n-heptano para proporcionar el compuesto del título como un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 6.8$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.26$ minutos, $m/z = 495$ [M-H].

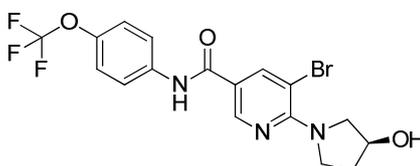
Ejemplo 34

(S)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 8, utilizando (S)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 34.1), y 1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol para proporcionar un polvo grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 4.42$ minutos, HPLC Quiral (CHIRALPAK® AD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente : EtOH / MeCN (98:2), 0.5 mililitros/minuto, Ultravioleta de 210 nanómetros) $t_R = 28.27$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 0.91$ minutos, $m/z = 434.2$ [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.63 -1.88 (m, 2 H) 2.92 (d, J = 11.73 Hz, 1 H) 3.19 - 3.29 (m, 2 H) 3.34 - 3.47 (m, 1 H) 4.18 (br. s, 1 H) 4.80 (d, J = 3.13 Hz, 1 H) 6.37 (s, 1 H) 7.31 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.75 - 7.89 (m, 3 H) 8.00 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 8.71 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 10.16 (s, 1 H) 12.85 -13.12 (m, 1 H).

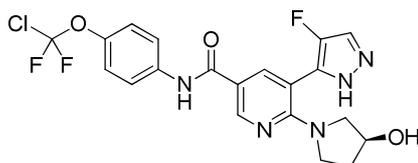
Etapa 34.1: (S)-5-bromo-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en la Etapa 8.1, utilizando 5-bromo-6-cloro-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.3), y (S)-pirrolidin-3-ol para proporcionar un polvo cristalino grisáceo. HPLC (Condición 4) $t_R = 5.83$ minutos, UPLC-MS (Condición 3) $t_R = 1.06$ minutos, $m/z = 446.1$ [M+H]⁺.

Ejemplo 35

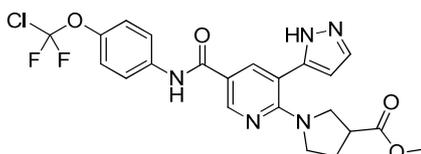
(S)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-nicotinamida



El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 5 utilizando 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(4-fluoro-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 25.1), y (S)-3-pirrolidinol para proporcionar un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 5.69 minutos, HPLC Quiral (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4.6 milímetros, eluyente : n-heptano/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 mililitro/minuto, Ultravioleta de 210 nanómetros) t_R = 12.62 minutos, UPLC-MS (Condición 6) t_R = 0.97 minutos, m/z = 468.2 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.71 - 1.81 (m, 1 H) 1.81 - 1.92 (m, 1 H) 3.02 (d, J = 11.34 Hz, 1 H) 3.24 - 3.37 (m, 2 H) 3.40 - 3.49 (m, 1 H) 4.23 (br. s, 1 H) 4.89 (br. s, 1 H) 7.32 (d, J = 9.4 Hz, 2 H) 7.76 - 7.98 (m, J = 9.00 Hz, 3 H) 8.03 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 8.79 (d, J = 2.35 Hz, 1 H) 10.20 (br. s, 1 H) 12.99 (br. s, 1 H).

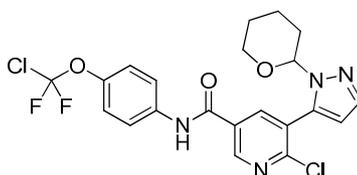
10 Ejemplo 36

1-(5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoyl)-3-(1H-pirazol-5-il)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-carboxilato de metilo



Se agregó DIPEA (181 microlitros, 1.035 milimoles) a una mezcla de 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 36.1, 100 miligramos, 0.207 milimoles), clorhidrato de metil-3-pirrolidina-carboxilato (44.5 miligramos, 0.269 milimoles), y iPrOH (414 microlitros) en un frasco de microondas, el cual se inundó con argón, se selló y se agitó a 130°C durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se trató con salmuera y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, n-heptano / EtOAc del 40 por ciento al 100 por ciento de EtOAc), seguida por cromatografía de capa delgada de preparación (gel de sílice, eluyente EtOAc). La liofilización adicional a partir de 1,4-dioxano proporcionó el compuesto del título como un sólido ligero blanco. UPLC-MS (Condición 6) t_R = 1.09 minutos, m/z = 492.1 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.90 - 2.02 (m, 1 H) 2.02 - 2.14 (m, 1 H) 3.06 - 3.20 (m, 1 H) 3.23 - 3.48 (m, 4 H) 3.61 (s, 3 H) 6.35 - 6.48 (m, 1 H) 7.34 (d, J = 8.78 Hz, 2 H) 7.79 - 7.90 (m, 1 H) 7.89 (d, J = 8.80 Hz, 2 H) 8.03 - 8.13 (m, 1 H) 8.70 - 8.83 (m, 1 H) 10.26 (s, 1 H).

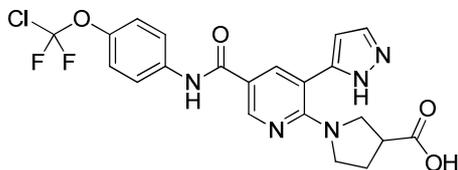
25 Etapa 36.1: 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



Se agregaron pinacol-éster de ácido 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-borónico (9.45 gramos, 34.0 milimoles), Na_2CO_3 (39.2 mililitros, 78 milimoles), y $PdCl_2(dppf)$ (0.956 gramos, 1.307 milimoles) a la 6-cloro-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-5-yodo-nicotinamida (Etapa 25.2, 12 gramos, 26.1 milimoles) en DME (160 mililitros). La mezcla se evacuó / purgó 3 veces con argón, y se agitó a 80°C durante 22 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (350 mililitros), se lavó con agua (150 mililitros, 4 veces), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 850 gramos, EtOAc / n-hexano (1:2)), y se cristalizó a partir de iPr_2O / EtOAc, para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 7.52 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.22 minutos, m/z = 483/485 $[M+H]^+$.

Ejemplo 37

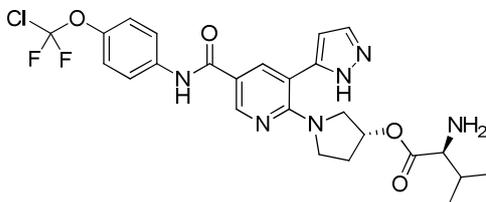
Ácido 1-(5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-3-(1H-pirazol-5-il)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-carboxílico



Se agregó LiOH acuoso 1M (0.199 mililitros, 0.199 milimoles) a una solución de 1-(5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-3-(1H-pirazol-5-il)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-carboxilato de metilo (Ejemplo 36, 24.5 miligramos, 0.05 milimoles) en metanol (MeOH) (0.5 mililitros) / tetrahidrofurano (THF) (1 mililitro), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora 20. La mezcla de reacción se trató con HCl 1M (4 equivalentes), y los solventes orgánicos se evaporaron bajo presión reducida. La fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, y los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se concentró bajo presión reducida hasta un volumen de 0.5 mililitros. Se agregó n-heptano y el producto se filtró, se lavó con n-heptano, y se secó, para proporcionar el compuesto del título como un sólido color beige. UPLC-MS (Condición 6) t_R = 0.96 minutos, m/z = 478.3 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.86 -2.12 (m, 2 H) 2.90 - 3.09 (m, 1 H) 3.17 - 3.54 (m, 4 H) 6.41 (d, J = 2.08 Hz, 1 H) 7.34 (d, J = 9.05 Hz, 2 H) 7.66 - 7.83 (m, 1 H) 7.88 (d, J = 9.17 Hz, 2 H) 8.06 (d, J = 2.44 Hz, 1 H) 8.70 - 8.84 (m, 1 H) 10.23 (s, 1 H) 12.90 (br. s, 1 H).

Ejemplo 38

2-amino-3-metil-butanoato de (S)(R)-1-(5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-3-(1H-pirazol-5-il)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-ilo

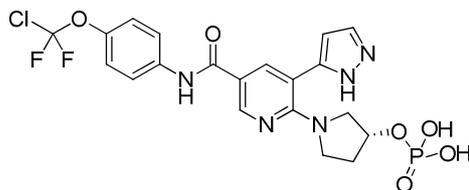


Se agregaron Boc-L-Valina (726 miligramos, 3.34 milimoles), y DMAP (102 miligramos, 0.836 milimoles) a una mezcla de (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9, 800 miligramos, 1.672 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (20 mililitros), y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Entonces se agregó N,N'-di-isopropil-carbodi-imida (0.521 mililitros, 3.34 milimoles), y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 19 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (150 mililitros), se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO₃ (50 mililitros), y salmuera (50 mililitros, 2 veces), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se suspendió en EtOAc (5 mililitros), se agitó a temperatura ambiente, se filtró, y se lavó con 10 mililitros de EtOAc. El filtrado se evaporó a sequedad bajo presión reducida, y el intermediario resultante se disolvió en dicloro-metano (DCM) (15 mililitros), se trató con ácido trifluoro-acético (TFA) (4.09 mililitros, 53.0 milimoles), y se agitó a temperatura ambiente durante 92 horas. El solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se disolvió en EtOAc (150 mililitros), se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO₃ (50 mililitros), y con agua (50 mililitros, 2 veces), se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se disolvió en metanol (MeOH) (20 mililitros), y se trató con Si-Tiol (Biotage 1.3 milimoles/gramo, 1 gramo). Se agregó gel de sílice (5 gramos) a la mezcla, el solvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice RediSep®, 120 gramos, dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH), 95:5), seguida por cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) de preparación (columna DEAP; isocrática 25 por ciento en 15 minutos). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se disolvió en metanol (MeOH) caliente (4 mililitros), y se filtró a través de un filtro de 0.45 micras de PTFE. El filtrado se sonicó durante 5 minutos y la suspensión blanca resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, se filtró, se lavó con metanol (MeOH) (1 mililitro), y se secó para dar el producto del título como un sólido blanco. HPLC (Condición 5) t_R = 5.41 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 0.86 minutos, m/z = 549.2 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.77 (d, J = 6.65 Hz, 3 H) 0.81 (d, J = 6.65 Hz, 3 H) 1.51 -1.64 (m, 2 H) 1.69 -1.81 (m, 1 H) 1.84 -1.94 (m, 1 H) 1.98 -2.12 (m, 1 H) 3.02 (d, J = 5.08 Hz, 1 H) 3.15 (d, J = 12.90 Hz, 1 H) 3.30 - 3.43 (m, 2 H) 3.46 - 3.57 (m, 1 H) 5.13 -

5.25 (m, 1 H) 6.39 (br. s, 1 H) 7.31 (d, J = 8.21 Hz, 2 H) 7.76 - 7.91 (m, 3 H) 8.05 (s, 1 H) 8.73 (br. s, 1 H) 10.21 (s, 1 H) 12.94 (br. s, 1 H).

Ejemplo 39

Fosfato diácido de (R)-1-(5-((4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-3-(1H-pirazol-5-il)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-ilo



5

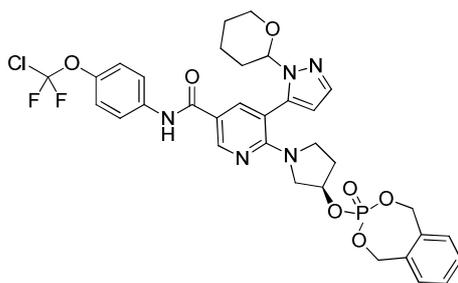
Se agregó TFA (1.227 mililitros, 15.93 milimoles) a una solución de N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-((3-óxido-1,5-dihidro-benzo-[e][1,3,2]dioxo-fosfepin-3-il)-oxi)-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 39.1, 620 miligramos, 0.797 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (10 mililitros) y la mezcla de reacción se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. Se agregó ácido trifluoro-acético adicional (TFA) (500 μ L), y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas adicionales a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 mililitros), se trató con Na_2CO_3 saturado acuoso (70 mililitros), y se extrajo con EtOAc (50 mililitros). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos de dicloro-metano (DCM) / EtOH a partir de 9:1 a 4:6). El Intermediario se disolvió en metanol (MeOH) / tetrahydrofurano (THF) (10 mililitros de 1:1), y se hidrogenó (60 miligramos de Pd/C al 5 por ciento, 0.1 bar, 22-25°C, 6.5 horas). La mezcla de reacción se filtró a través de Hyflo® y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (MeOH) / tetrahydrofurano (THF), y se trató con un cartucho PL-Tiol p.f. SPE (StratoSpheresMR). La resina se filtró y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto del título. HPLC (Condición 5) t_R = 5.50 minutos, UPLC-MS (Condición 6) t_R = 0.76 minutos, m/z = 530.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.88 - 2.08 (m, 2 H) 3.12 - 3.48 (m, 4 H) 4.73 (br. s, 1 H) 6.37 - 6.44 (m, 1 H) 7.33 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 7.76 (s, 1 H) 7.87 (d, J = 8.99 Hz, 2 H) 8.04 - 8.08 (m, 1 H) 8.73 - 8.78 (m, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

10

15

20

Etapa 39.1: N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-((3-óxido-1,5-dihidro-benzo-[e][1,3,2]dioxo-fosfepin-3-il)-oxi)-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida



25

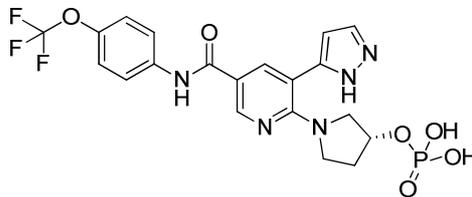
Se agregó N,N-dietil-1,5-dihidro-benzo-[e][1,3,2]dioxo-fosfepin-3-amina (355 miligramos, 1.483 milimoles) a una mezcla de N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Etapa 9.1, 200 miligramos, 0.371 milimoles), y tetrazol en MeCN (8.240 mililitros, 3.71 milimoles), en un frasco y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 5°C, se trató con trietil-amina (0.775 mililitros, 5.56 milimoles), y H_2O_2 acuoso (0.379 mililitros, 3.71 milimoles), y se agitó a 0°C durante 30 minutos, seguidos por 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10 por ciento (20 mililitros), y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con agua (20 mililitros), y salmuera (15 mililitros), se secaron sobre Na_2SO_4 y el solvente se evaporó bajo presión reducida, para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (columna de gel de sílice, 12 gramos de dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) de 98:2 a 9:1), para dar el producto del título como una espuma blanca. HPLC (Condición 5) t_R = 7.3 minutos, UPLC-MS (Condición 3) t_R = 1.18 minutos, m/z = 716.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

30

35

Ejemplo 40

Fosfato diácido de (R)-1-(3-(1H-pirazol-5-il)-5-((4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-carbamoil)-piridin-2-il)-pirrolidin-3-ilo



5 El compuesto del título se preparó de una manera análoga a la que se describe en el Ejemplo 39 utilizando (R)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-3-il)-N-(4-(trifluoro-metoxi)-fenil)-nicotinamida (Etapa 2.1), y N,N-dietil-1,5-dihidrobenzo-[e][1,3,2]-dioxo-fosfepin-3-amina, para proporcionar un sólido color beige. HPLC (Condición 5) $t_R = 5.3$ minutos, UPLC-MS (Condición 6) $t_R = 0.75$ minutos - $m/z = 514.4$ [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.88 -2.07 (m, 2 H) 3.21 - 3.49 (m, 4 H) 4.66 - 4.76 (m, 1 H) 6.41 (d, J = 1.96 Hz, 1 H) 7.02 - 7.15 (m, 1 H) 7.34 (d, J = 8.68 Hz, 2 H) 7.77 (s, 1 H) 7.87 (d, J = 9.05 Hz, 2 H) 8.06 (d, J = 2.32 Hz, 1 H) 8.75 (d, J = 2.32 Hz, 1 H) 10.21 (s, 1 H).

Ejemplo 41

Formulación en dispersión sólida

Se puede preparar una formulación en dispersión sólida para los compuestos de la invención, en donde la mejora de su solubilidad sea benéfica para la biodisponibilidad y/o permeabilidad.

15 La formulación en dispersión sólida se preparó utilizando una dispersión amorfa de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9, véase la Figura 1) con excipientes seleccionados a partir de PVP VA64 y Pharmacoat 603. Primero, se preparó una solución para secado por aspersión mediante la mezcla de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9, 2.5 gramos) con PVP VA 64 (3.75 gramos), y Pharmacoat 603 (3.75 gramos). Se agregó una mezcla de 50/50 de cloruro de metileno/etanol, hasta que todos los componentes se disolvieron, como se mostró por una solución transparente libre de particulados y nebulosidad (aproximadamente 200 mililitros). De una manera alternativa, la mezcla de 50/50 de cloruro de metileno/etanol puede ser sustituida con una mezcla de acetona/etanol/agua (5:4:1). El secado por aspersión se llevó a cabo en una secadora Büchi B290 Mini-Spray, con una temperatura de entrada de 70°C, aspiración al 85 por ciento, flujo de nitrógeno a 50 mm Hg, bombeo al 15 por ciento, y el limpiador de la boquilla se puso a cero, para proporcionar 5.5 gramos (55 por ciento). La dispersión sólida secada por aspersión resultante contuvo el 23.6 por ciento de carga de fármaco de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9), el 37.5 por ciento de PVP VA64, y el 37.5 por ciento de Pharmacoat 603. La dispersión fue amorfa, con un valor de temperatura de transición vítrea (T_g) de 117°C, y contuvo aproximadamente el 1.4 por ciento de agua, como se determinó mediante el análisis termogravimétrico (TGA). La disolución de esta dispersión sólida a un pH de 1, seguida por un cambio de pH hasta 6.8 después de 30 minutos, mostró la disolución completa bajo un pH ácido. La dispersión permaneció completamente solubilizada después de un estímulo de pH hasta un pH neutro.

35 La dispersión se suspendió en suero regulado con fosfato (PBS), en una concentración de 3 miligramos/mililitro (como el fármaco) durante 12 horas a temperatura ambiente. No se observó ninguna cristalización, el tamaño de partículas D (0.9; el diámetro de la partícula en donde el 90 por ciento de las partículas son menores de este número mencionado) fue de 14.134 con una distribución de tamaños de partículas muy homogénea y estrecha. El fármaco no se cristalizó a partir de la suspensión y no se observó ninguna degradación química (como se evaluó mediante UPLC). La suspensión tuvo una pureza química del 99.4 por ciento, la cual coincidió con la pureza T0 de la suspensión y el fármaco mismo.

40 Las propiedades mejoradas de la formulación en dispersión sólida de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) en el perro se pueden demostrar mediante la Tabla de los parámetros farmacocinéticos a continuación.

Tipo de formulación	Dispersión sólida	Suspensión
Dosis [mg/kg]	60	60
AUC [mM*h] (SD)	671.9	102.9
cmax [nM] (SD)	47127	7314
BAV* [%] (SD)	179.1	27.4
Tmax [h] (SD)	2.00	3.3
Volumen de Administración [ml/kg]	5	5
Rango de exposición / cMax	14.2	14.1

La formulación en dispersión sólida de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) en una dosis de 60 mpk dio 6.5 veces más exposición que la suspensión cristalina (671.9 μM contra 102.9 μM).

5 Ensayos

La utilidad de los compuestos de la invención descrita en la presente se puede evidenciar mediante la prueba de los siguientes ensayos. Los compuestos de la invención se evaluaron con el fin de determinar su capacidad para inhibir la actividad de ABL1 en los ensayos bioquímicos y de BCR-ABL1 en los ensayos celulares descritos más adelante. Los compuestos de la invención se probaron adicionalmente, y se demostró que son eficaces in vivo utilizando un modelo de xenoinjerto de KCL-22.

Ensayos Bioquímicos

Expresión y purificación de cinasa de proteína - La expresión y la purificación de la ABL humana se llevó a cabo utilizando procedimientos de purificación de expresión convencionales. Se generó la proteína ABL64-515 y se utilizó para los ensayos de cinasa in vitro. La proteína se generó mediante un vector de co-expresión portador de fragmentos de ADN para ABL1 (1a isoforma, con una marca-His6 N-terminal, seguida por un sitio de disociación de proteasa PreScission), y la fosfatasa de tirosina de las proteínas-1B humana (residuos 1-283, no marcada), utilizando el vector de expresión doble pCDF Duet-1 (Novagen). La His-ABL se expresó en E.coli BL21 (DE3), y las proteínas de ABL se aislaron por afinidad con Ni en una columna de Ni-NTA (Qiagen). La marca-His se removió mediante la proteasa PreScission (GE Healthcare), y la ABL no fosforilada se purificó adicionalmente en un Mono Q HR 10/10 (GE Healthcare). La ABL mono-fosforilada es de aproximadamente el 10 al 20 por ciento de la proteína de ABL total), y en una columna de exclusión por tamaños HiLoad 16/60 Superdex 200 (GE Healthcare). Las proteínas ABL64-515 no fosforiladas se analizaron mediante análisis espectroscópico de masas y se congelaron instantáneamente en alícuotas, y se almacenaron a -80°C . La SRC (aminoácidos 83-535 o Src83-535) se expresó y se purificó como ya se ha descrito (S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, P.W. Manley, W. Jahnke, D. Fabbro, J. Liebetanz, T. Meyer, c-*Src* crystal structure provides insights into c-*Src* activation. Structure 13 (2005) 861-871).

Radio-Ensayo de ABL1 (64-515)

Para la determinación de la actividad de cinasa de ABL, se utilizó el ensayo radiométrico de enlace al filtro. El ensayo se llevó a cabo mediante la mezcla de 10 microlitros del compuesto previamente diluido con 10 microlitros de ATP (ATP 20 μM con 0.1 μCi de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$) con el péptido fosfo-aceptor de poli-[Ala6Glu2LysHBr5Tyr1] = poliAEKY) en Tris/HCl 20 mM, pH de 7.5, DTT 1 mM, MgCl_2 10 mM, Na_3VO_4 0.01 mM, NaCl 50 mM. Se agregaron 10 microlitros de enzima (en el intervalo de entre 5 nM y 20 nM), para iniciar la reacción. La incubación previa de la

enzima con los compuestos (cuando se menciona) se llevó a cabo exponiendo la enzima a los compuestos antes de la adición de la mezcla de sustrato (ATP y/o sustrato peptídico). Después de 15 minutos a temperatura ambiente, la reacción se interrumpió mediante la adición de 50 microlitros de EDTA 125 mM, y el 33P enlazado al péptido se separó sobre placas de filtro (PVDF o MAIP; Millipore, Volketswil, Suiza) preparadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas de filtro se lavaron 3 veces con H_3PO_4 al 0.5 por ciento, seguido por la adición de 30 microlitros de cóctel de centelleo (Microscint, Perkin Elmer) por pozo, y entonces se analizaron en un contador de centelleos TopCount NXT (Perkin Elmer). Los resultados se expresaron como los valores IC_{50} . Los valores K_m para ATP se determinaron mediante el ensayo de la cinasa ABL con concentraciones crecientes de ATP y manteniendo el sustrato de proteína aceptor exógeno (poli-AEKY) en una concentración constante (a aproximadamente 2 veces su K_m), y viceversa. Las K_m y V_{max} se calcularon de acuerdo con Eadie-Hofstee, como se describe (D. Fabbro, G. Fendrich, V. Guez, T. Meyer, P. Furet, J. Mestan, J.D. Griffin, P.W. Manley, S.W. Cowan-Jacob, Targeted therapy with imatinib: An exception or a rule? Handbook of Experimental Pharmacology 167, Inhibitors of Protein Kinases and Protein Phosphates (2005) 361-389). Los datos se graficaron como V contra V/S, en donde V es la velocidad de la reacción en una concentración dada del sustrato (S), y se ajustó a una línea recta utilizando el análisis de regresión lineal, en donde la pendiente de la línea corresponde a la $-K_m$, y la intersección Y representa la V_{max} .

Ensayo Caliper de ABL1 (64-515)

Todos los ensayos se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 384 pozos. Cada placa de ensayo contuvo diluciones en serie de 8 puntos para los 40 compuestos de prueba, así como cuatro diluciones en serie de 8 puntos de estaurosporina como un compuesto de referencia, más 16 controles altos y 16 controles bajos. El manejo de líquidos y los pasos de incubación se hicieron en una estación de trabajo Thermo CatX equipada con Innovadyne Nanodrop Express. Entre los pasos de pipeteo, las puntas se limpiaron en ciclos de lavado utilizando un regulador de lavado.

Las placas de ensayo se prepararon mediante la adición de 50 nanolitros por pozo de la solución del compuesto en sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 por ciento. Las reacciones de cinasa se iniciaron mediante la adición por pasos de 4.5 microlitros por pozo de la solución de péptido/ATP (HEPES 50 mM, pH de 7.5, DTT 1 mM, albúmina de suero bovino (BSA) al 0.02 por ciento, sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.6 por ciento, beta-glicerofosfato 10 mM, y ortovanadato de sodio 10 μ M, $MgCl_2$ 20 mM, $MnCl_2$ 2 mM, ATP 4 μ M, péptido 4 μ M (FITC-Ahx-EAIYAAPFAKKK-NH₂)), y 4.5 microlitros por pozo de la solución enzimática (HEPES 50 mM, pH de 7.5, DTT 1 mM, albúmina de suero bovino (BSA) al 0.02 por ciento, sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.6 por ciento, beta-glicerofosfato 10 mM, y ortovanadato de sodio 10 μ M, $MgCl_2$ 20 mM, $MnCl_2$ 2 mM, ABL 3.5 nM (ABL(64-515), producida en la empresa a partir de E. coli)). Las reacciones de cinasa se incubaron a 30°C durante 60 minutos, y subsiguientemente se terminaron mediante la adición de 16 micro-litros por pozo de la solución de paro (Hepes 100 mM, pH de 7.5, sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 por ciento, reactivo de recubrimiento Caliper al 0.1 por ciento, EDTA 10 mM, y Brij35 al 0.015 por ciento). Las placas con las reacciones de cinasa terminadas se transfirieron a las estaciones de trabajo Caliper LC3000 para su lectura. Los péptidos fosforilados y no fosforilados se separaron utilizando la tecnología de cambio de movilidad microfluida Caliper. Dicho de una manera breve, las muestras a partir de las reacciones de cinasa terminadas se aplicaron al chip. Los analitos se transportaron a través del chip mediante un flujo constante del regulador, y se monitoreó la migración del sustrato peptídico mediante la señal de fluorescencia de su marca. El péptido fosforilado (producto), y el péptido no fosforilado (sustrato) se separaron en un campo eléctrico mediante su proporción de carga/masa. Las actividades de cinasa se calcularon a partir de las cantidades del fosfo-péptido formado. Los valores IC_{50} se determinaron a partir de los valores del porcentaje de inhibición en diferentes concentraciones de los compuestos mediante el análisis de regresión no lineal.

Preparación de diluciones de los compuestos: Los compuestos de prueba se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (10 mM), y se transfirieron a tubos de fondo plano de 1.4 mililitros o de matriz en forma de V que llevaban una matriz 2D única. Las soluciones de suministro se almacenaron a +2°C si no se usaban inmediatamente. Para el procedimiento de prueba, los frascos se descongelaron y se identificaron mediante un explorador, en donde se generó una hoja de cálculo que guió los siguientes pasos de procesamiento.

Las diluciones de los compuestos se hicieron en placas de 96 pozos. Este formato hizo posible el ensayo de máximo 40 compuestos de prueba individuales en 8 concentraciones (puntos individuales), incluyendo 4 compuestos de referencia. El protocolo de dilución incluyó la producción de "placas de pre-dilución", "placas maestras" y "placas de ensayo".

Placas de pre-dilución: Se utilizaron placas de polipropileno de 96 pozos como las placas de pre-dilución. Se preparó un total de 4 placas de pre-dilución incluyendo 10 compuestos de prueba cada una en las posiciones de la placa A1-A10, un compuesto estándar en la posición A11, y un control de sulfóxido de dimetilo (DMSO) en la posición A12. Todos los pasos de dilución se hicieron en un robot HamiltonSTAR.

Placas maestras: 30 microlitros de las diluciones individuales de los compuestos, incluyendo el compuesto estándar y los controles de las 4 "placas de pre-dilución" se transfirieron a una "placa maestra" de 384 pozos, incluyendo las

siguientes concentraciones 1810, 362, 72.5, 54.6, 14.5, 2.9, 0.58 y 0.12 μM , respectivamente, en el 90 por ciento de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

5 Placas de ensayo: Entonces se prepararon "placas de ensayo" idénticas mediante el pipeteo de 50 nanolitros de cada una de las diluciones de los compuestos de las "placas maestras" en las "placas de ensayo" de 384 pozos por medio de un dosificador de 384 canales HummingBird. Estas placas se utilizaron directamente para el ensayo que se llevó a cabo en un volumen total de 9.05 microlitros. Esto condujo a una concentración final de los compuestos de 10, 2.0, 0.4, 0.08, 0.016, 0.0032, 0.00064 y 0.000128 μM , y en una concentración final de sulfóxido de dimetilo (DMSO) del 0.5 por ciento en el ensayo.

Ensayos Celulares

10 Con el fin de evaluar la capacidad de los compuestos de la invención para inhibir la actividad de BCR-ABL1 en los ensayos celulares, los compuestos se evaluaron con el objeto de determinar su capacidad para inhibir selectivamente la proliferación de las células dependiente de la expresión de BCR-ABL1 en relación con las células que no dependen de la expresión de BCR-ABL1.

15 Se utilizó la línea celular derivada de médula ósea de murino Ba/F3 para generar los modelos de líneas celulares apropiados. Las células Ba/F3 se obtuvieron en la German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares) (DSMZ, Braunschweig y DSMZ No. ACC 300). Las células Ba/F3 progenitoras dependen de IL3 para el crecimiento y la sobrevivencia, y se utilizaron como la línea celular de referencia que no depende de la actividad de BCR-ABL1 para el crecimiento y la sobrevivencia. Estas células son referidas como Ba/F3-WT.

20 Con el fin de generar las células Ba/F3 que dependen de la expresión de BCR-ABL1 para el crecimiento y la sobrevivencia, se diseñaron las células Ba/F3 para expresar BCR-ABL1, utilizando una transducción retroviral con un vector retroviral basado en MSCV que contenía un casete de expresión de BCR-ABL1 p210. Cuando se cultivaron en ausencia de IL-3, la proliferación de las células dependió de la expresión de BCR-ABL1. (Daley, G.Q. y Baltimore, D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myeloid leukemia-specific p210 BCR-ABL1 protein. PNAS 1988; 85: 9312-9316). Estas células son referidas como Ba/F3-BCR-ABL-WT. Se empleó un planteamiento similar para generar las células Ba/F3 que dependen de una variante de BCR-ABL1, en donde la treonina 315 es reemplazada con isoleucina. Estas células son referidas como Ba/F3-BCR-ABL-T315I.

30 Las células Ba/F3-WT se mantuvieron en un medio RPMI1640 con L-glutamina, HEPES (Lonza), suero bovino fetal (FBS) al 10 por ciento (Gibco), y 5 nanogramos/mililitro de IL-3 (Calbiochem). Las células Ba/F3-BCR-ABL1-WT y las células Ba/F3-BCR-ABL1-T315I se mantuvieron en el medio RPMI1640 con L-glutamina, HEPES (Lonza), y suero bovino fetal (FBS) al 10 por ciento (Gibco).

Ensayo de Proliferación

35 Para cada línea celular, se ajustó la densidad celular a 50,000 células/mililitro, y se agregaron 50 microlitros (2,500 células) por pozo de una placa de ensayo de 384 pozos.

40 Los compuestos de prueba se volvieron a suspender en sulfóxido de dimetilo (DMSO) en una concentración de 10 mM. Se llevó a cabo una dilución triple en serie de cada compuesto con sulfóxido de dimetilo (DMSO) en placas de 384 pozos utilizando el dosificador de líquidos Janus (PerkinElmer). El compuesto se suministró a las placas de ensayo que contenían 2,500 células en un volumen de 50 microlitros por medio de un suministro Acoustic a partir de un ATS-100 (EDC). Para los ensayos de las células Ba/F3-BCR-ABL1-WT, se transfirieron 2 nanolitros de la dilución de cada compuesto a la placa de ensayo para obtener concentraciones finales del ensayo de 0.4 μM , 0.13 μM , 0.044 μM , 0.015 μM , 0.005 μM , 0.001 μM , 0.00033 μM , 0.00011 μM , 0.000037 μM , 0.000012 μM . Para los ensayos de las células Ba/F3-WT y Ba/F3-BCR-ABL1-T315I, se transfirieron 50 nanolitros de la dilución de cada compuesto a la placa de ensayo para obtener las concentraciones finales del ensayo de 10 μM , 3.33 μM , 1.11 μM , 0.37 μM , 0.12 μM , 0.041 μM , 0.014 μM , 0.0046 μM , 0.0015 μM , 0.00051 μM .

50 Las células se incubaron a 37°C en un medio ambiente humidificado con dióxido de carbono al 5 por ciento durante 48 horas. Se preparó la solución Britelite plus (Perkin Elmer) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, y se agregaron 25 microlitros a cada pozo de la placa de ensayo. Las placas se incubaron durante 3 a 5 minutos, y se detectó la luminiscencia en un lector de placas EnVision Multimode (Perkin Elmer). El grado de luminiscencia se correlacionó con el número de células en cada pozo. Por consiguiente, se pudo calcular el efecto de la concentración de cada inhibidor, y se generaron los valores IC₅₀.

ES 2 670 601 T3

Los compuestos de la invención muestran valores IC₅₀ en el intervalo de 0.1 nM a 12 nM para la inhibición de la actividad de cinasa de Abl en un enlace de filtro radiométrico (Radio). Para el ensayo de cambio de movilidad microfluida (Caliper), los valores IC₅₀ se pudieron encontrar en el intervalo de 0.1 nM a 10 nM. Para el ensayo de proliferación celular de Ba/F3-BCR-ABL-WT y T3151, los valores GI₅₀ se pudieron encontrar en el intervalo de 0.8 nM a 110 nM y de 13 nM a 4.2 μM, respectivamente.

5

Tabla de Datos Bioquímicos

Ejemplo	Radio ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Caliper ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Ejemplo	Radio ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Caliper ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]
1	< 0.003	0.0022	21	0.001	0.0013
2	0.004	0.001	22	0.006	< 0.00064
3	0.004	0.0007	23	0.007	0.0005
4	0.0034	0.0013	24	0.005	0.0004
5	0.007	0.0012	25	0.001	0.0007
6	0.003	0.0032	26	0.012	0.0104
7	< 0.003	0.0004	27	0.002	0.0011
8	0.0019	0.0004	28	0.0028	0.0019
9	0.0024	0.0003	29	0.009	0.0009
10	< 0.00013	0.0003	30	0.0004	0.0043
11	< 0.003	< 0.00013	31	0.001	0.0025
12	0.006	0.0005	32	0.003	0.013
13	0.01	0.0006	33	0.0060	0.0006
14	0.01	0.0009	34	0.0020	0.0041
15	0.011	0.0003	35		0.0004

ES 2 670 601 T3

Ejemplo	Radio ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Caliper ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Ejemplo	Radio ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]	Caliper ABL1 (64-515) IC ₅₀ [μM]
16	0.012	< 0.00013	36		0.0021
17	0.003	0.0024	37		0.0005
18	0.002	0.0002	38	0.0040	0.0025
19	0.005	0.0018	39	0.0030	0.0013
20	0.0013	0.0004	40		0.0021

Tabla de Datos de Proliferación Celular de Ba/F3-BCR-ABL1-WT y T315I

Ejemplo	Ba/F3-BCR-ABL1 WT IC50 [μM]	Ba/F3-BCR-ABL1 T315I IC50 [μM]	Ejemplo	Ba/F3-BCR-ABL1 WT IC50 [μM]	Ba/F3-BCR-ABL1 T315I IC50 [μM]
2	0.0048	0.135	18	0.0015	0.032
3	0.0075	0.133	19	0.0135	0.236
4	0.0117	0.327	21	0.004	0.149
5	0.0081	0.134	23	0.0017	0.042
7	0.0060	0.132	24	0.0011	0.022
8	0.0022	0.065	25	0.0011	0.023
9	0.0015	0.035	26	0.0090	0.227
10	0.0019	0.044	28	0.0075	0.150
11	0.001	0.038	30	0.0318	0.715

Ejemplo	Ba/F3-BCR-ABL1 WT IC50 [µM]	Ba/F3-BCR-ABL1 T315I IC50 [µM]	Ejemplo	Ba/F3-BCR-ABL1 WT IC50 [µM]	Ba/F3-BCR-ABL1 T315I IC50 [µM]
12	0.0019	0.038	31	0.0041	0.133
13	0.0096	0.150	33	0.0015	0.032
14	0.0189	0.218	34	0.0150	0.212
15	0.0019	0.031	35	0.0008	0.013
16	0.0041	0.092	36	0.0019	0.071
17	0.0155	0.199			

Eficacia in vivo en el modelo de xenoinjerto de KCL-22 – tratamiento con un solo agente

5 Los compuestos de la invención se dosificaron oralmente en un modelo de xenoinjerto de ratón KCL-22 durante 7 días. Los ratones sin pelo hembras de 6 a 8 semanas de edad adquiridos en Harlan (Indianápolis IN) se implantaron subcutáneamente con 5×10^6 células KCL-22 en matrigel al 50 por ciento (BD Biosciences, #354234) en la región axilar dorsal derecha. El tratamiento con el fármaco se inició cuando el volumen tumoral alcanzó un promedio de 238 milímetros cúbicos (10 días después de la implantación del tumor). Los compuestos de la invención en suero regulado con fosfato se prepararon semanalmente y se dosificaron mediante intubación oral forzada a 3-30 miligramos/kilogramo dos veces al día ($n = 6$ ratones por nivel de dosis). El volumen tumoral se determinó mediante calibración digital dos veces por semana, y se calculó como la longitud x anchura² / 2.

10 Los compuestos de la invención mostraron regresiones estadísticamente significativas. Por ejemplo, una dosis de 3 mili-gramos/kilogramo dos veces al día de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida (Ejemplo 9) condujo a la inhibición del crecimiento tumoral del 45 por ciento, comparándose con los ratones tratados con vehículo, mientras que se observaron regresiones del 56 por ciento, el 88 por ciento, y el 92 por ciento en dosis de 7.5, 15 y 30 miligramos/kilogramo dos veces al día, respectivamente. Como un control positivo, se dosificó nilotinib a 75 miligramos/kilogramo dos veces al día, lo cual dio como resultado una regresión del tumor del 82 por ciento (Figura 2).

Eficacia in vivo en el modelo de xenoinjerto de KCL-22 - tratamiento con doble agente

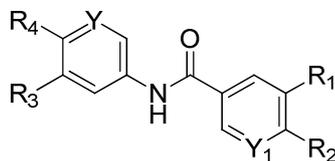
20 Los ratones hembras sin pelo de 6 a 8 semanas de edad, adquiridos en Harlan (Indianápolis IN), se implantaron subcutáneamente con 2×10^6 células KCL-22 en matrigel al 50 por ciento (BD Biosciences, #354234) en la región axilar dorsal derecha. El tratamiento con el fármaco se inició cuando el volumen tumoral alcanzó un promedio de 189 milímetros cúbicos (9 días después de la implantación del tumor). Los compuestos de la invención en una solución salina regulada con fosfato se prepararon semanalmente y se dosificaron mediante intubación oral forzada a 30 miligramos/ kilogramo dos veces al día, y se dosificó la solución de Nilotinib a 75 miligramos/kilogramo dos veces al día. Los animales recibieron ya sea un solo agente, o una combinación de ambos de una manera simultánea. El volumen tumoral se determinó mediante calibración digital dos veces por semana, y se calculó como la longitud x anchura² / 2.

30 Los animales tratados con nilotinib solo alcanzaron una regresión del tumor de >84 por ciento después del tratamiento diario durante 4 semanas, pero la mayoría de los tumores tuvieron recurrencia hasta >500 milímetros cúbicos posteriormente. Los animales con tumores resistentes al nilotinib entonces recibieron diariamente el tratamiento del Ejemplo 9, y se continuó su monitoreo para determinar la respuesta del tumor (Figura 3).

Los animales tratados con nilotinib y el Ejemplo 9 simultáneamente demostraron la regresión completa del tumor en todos los animales hasta el final del estudio (Figura 4).

REIVINDICACIONES

1. El compuesto de la fórmula (I):



(I)

5 en donde:

R₁ es pirazolilo; en donde este pirazolilo está insustituido o sustituido con 1 a 2 grupos R₆;

R₂ es pirrolidinilo; en donde este pirrolidinilo está sustituido con un grupo R₇;

R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno;

R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃;

10 R₆ en cada presentación se selecciona independientemente a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroximetilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo;

R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroximetilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo;

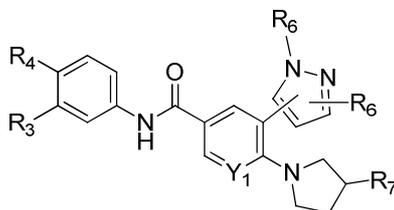
15 Y se selecciona a partir de CH y N;

Y₁ se selecciona a partir de CH y N;

Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂; y

Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, cloro, flúor, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo; o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 2. El compuesto de la reivindicación 1 de la fórmula (Ib):



(Ib)

en donde:

R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno;

R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃;

R₆ cuando está enlazado a un átomo de nitrógeno del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, hidroxi-etilo, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo; y R₆ cuando está enlazado a un átomo de carbono del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxi-metilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo;

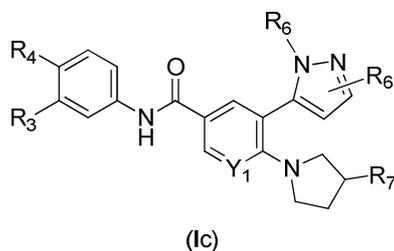
- 5 R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroxi-metilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo;

Y₁ se selecciona a partir de CH y N;

Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂;

- 10 Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo; o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

3. El compuesto de la reivindicación 2 de la fórmula (Ic):



en donde:

- 15 R₃ se selecciona a partir de hidrógeno y halógeno;

R₄ se selecciona a partir de -SF₅ e -Y₂-CF₂-Y₃;

- 20 R₆ cuando está enlazado a un átomo de nitrógeno del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, metilo, hidroxi-etilo, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo; y R₆ cuando está enlazado a un átomo de carbono del anillo de pirazolilo, se selecciona a partir de hidrógeno, hidroxilo, metilo, metoxilo, ciano, trifluoro-metilo, hidroxi-metilo, halógeno, amino, fluoro-etilo, etilo y ciclopropilo;

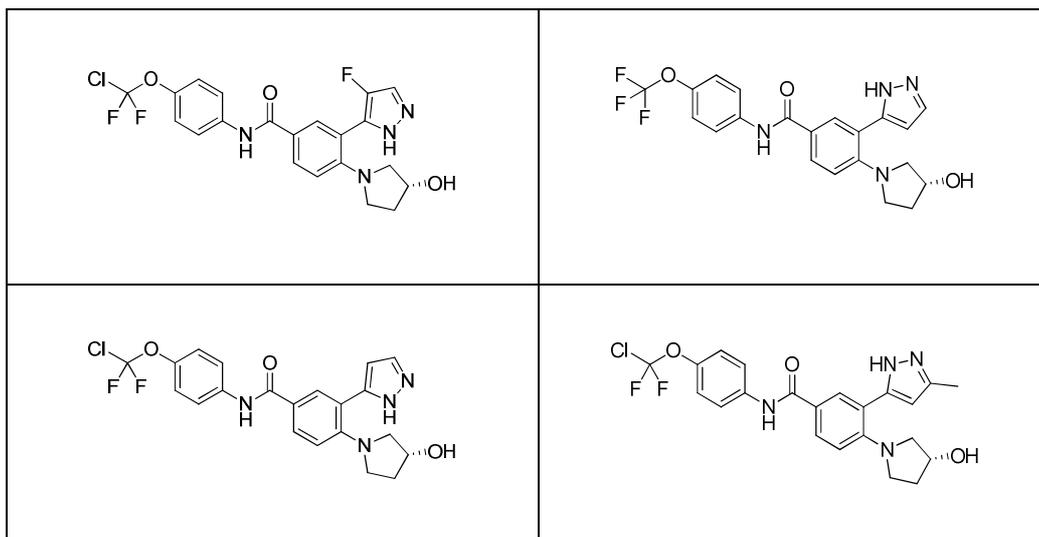
R₇ se selecciona a partir de hidroxilo, metilo, halógeno, metoxilo, hidroxi-metilo, amino, metil-amino, amino-metilo, trifluoro-metilo, 2-hidroxi-propan-2-ilo, metil-carbonil-amino, dimetil-amino, 2-amino-3-metil-butanoil)-oxilo, carboxilo, metoxi-carbonilo, fosfono-oxilo, ciano y amino-carbonilo;

Y₁ se selecciona a partir de CH y N;

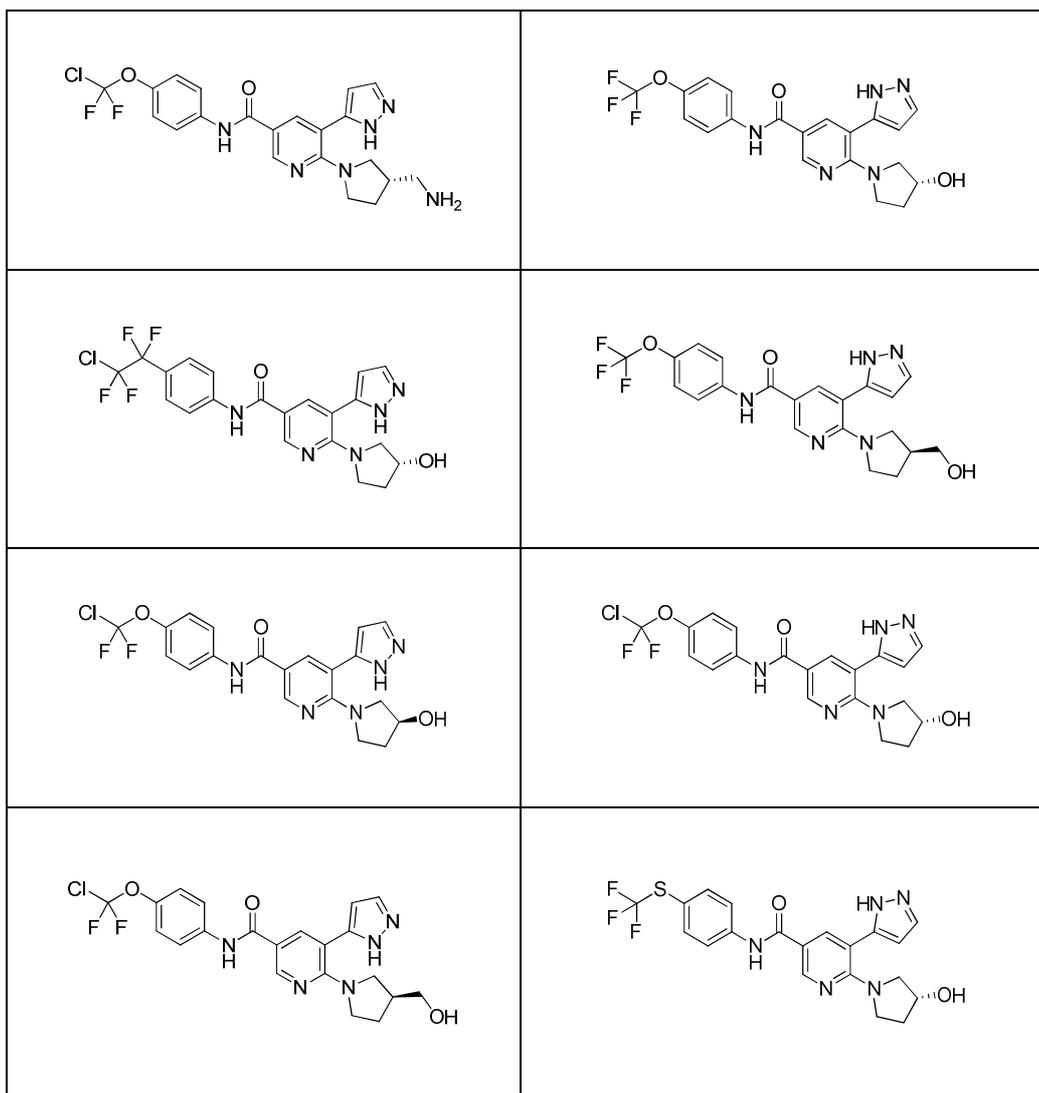
- 25 Y₂ se selecciona a partir de CF₂, O y S(O)₀₋₂;

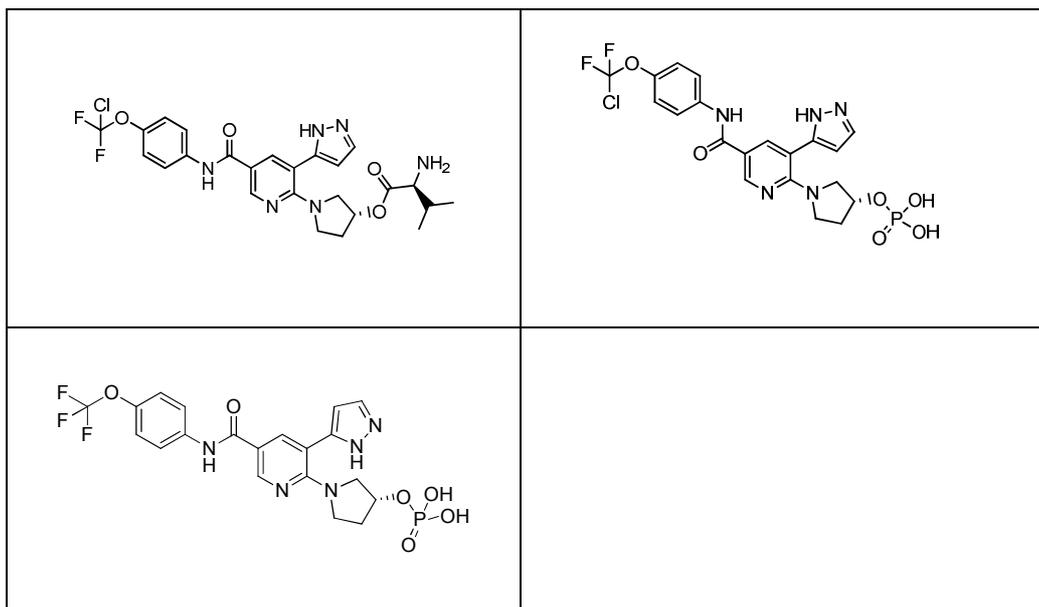
Y₃ se selecciona a partir de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, difluoro-metilo y trifluoro-metilo; o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

4. El compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

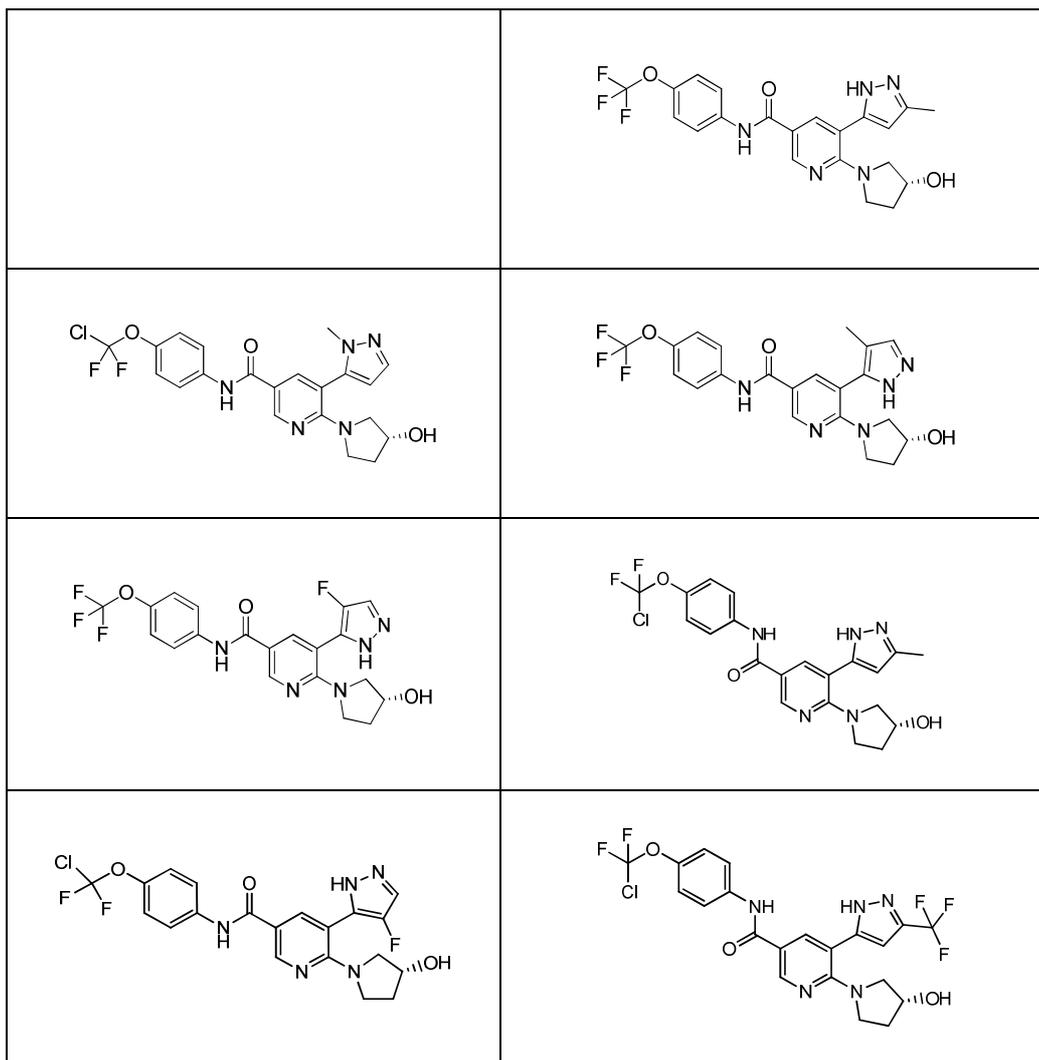


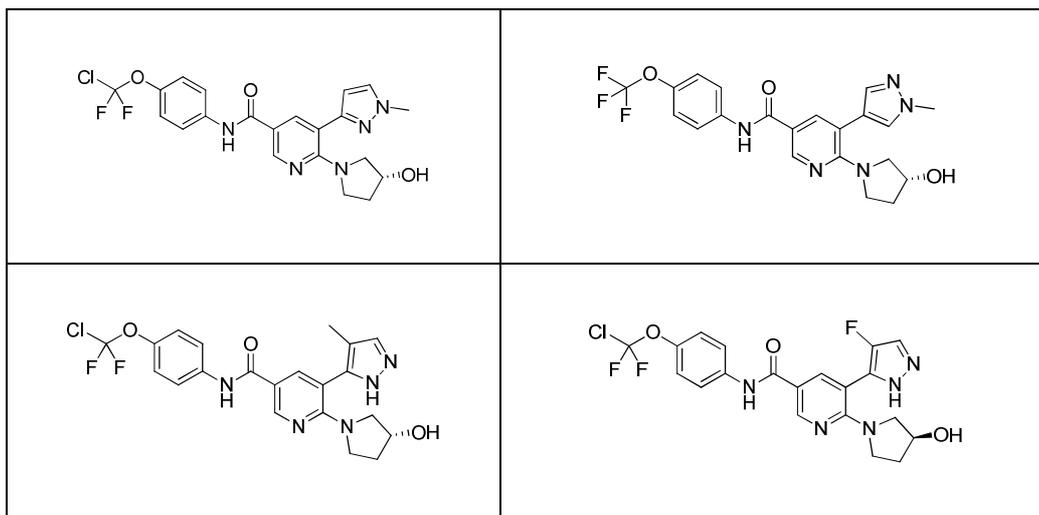
5. El compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:



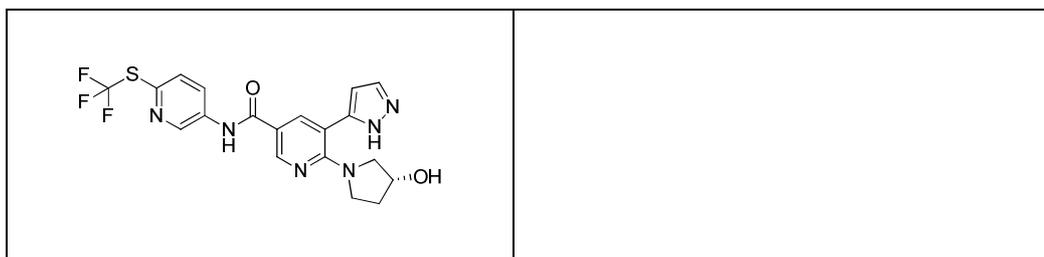


6. El compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

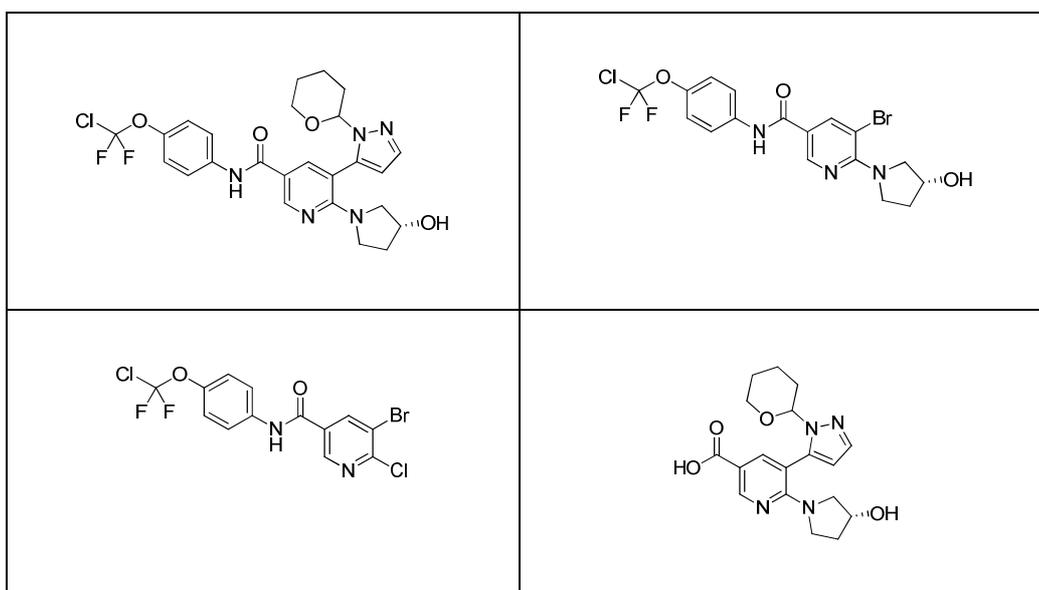


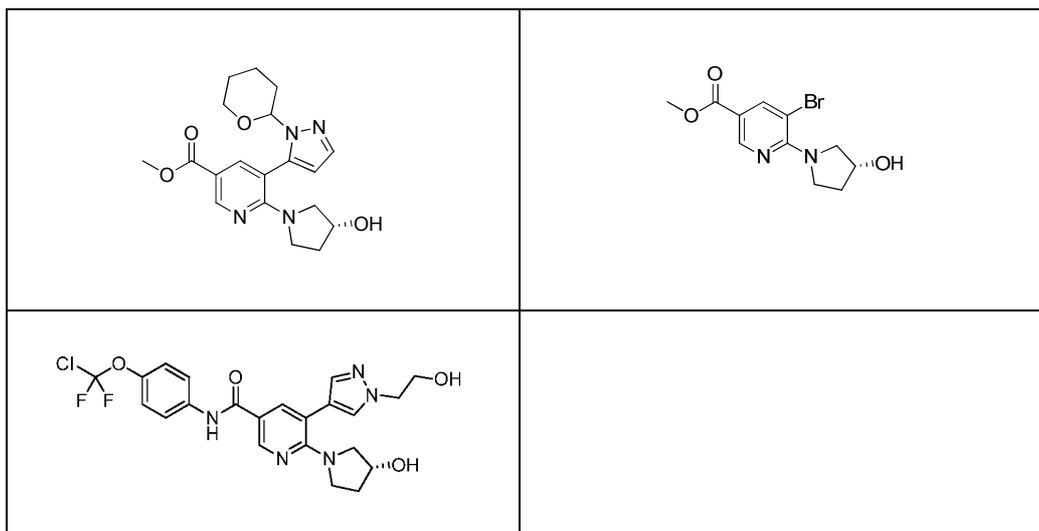


7. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual es:



8. Un compuesto seleccionado a partir de:





9. El compuesto de la reivindicación 1, el cual es la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 5 10. Una composición farmacéutica, la cual comprende una dispersión amorfa de la (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida, y de 1 a 2 excipientes seleccionados a partir de PVP VA64 y Pharmacoat 603.
- 10 11. La composición de la reivindicación 10, en donde el porcentaje de Pharmacoat 603 está en el intervalo del 30 por ciento al 45 por ciento, el porcentaje de PVP VA64 está en el intervalo del 30 por ciento al 45 por ciento, y el porcentaje de (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida está en el intervalo del 20 por ciento al 30 por ciento.
12. La composición de la reivindicación 11, en donde el porcentaje de Pharmacoat 603 es del 37.5 por ciento, el porcentaje de PVP VA64 es del 37.5 por ciento, y el porcentaje de (R)-N-(4-(cloro-difluoro-metoxi)-fenil)-6-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)-nicotinamida es del 25 por ciento.
- 15 13. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en el tratamiento del cáncer.
14. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el cáncer es una leucemia seleccionada de la leucemia mieloide crónica y la leucemia linfoblástica aguda.
- 20 15. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, junto con un compuesto adicional seleccionado de imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib.
16. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 15 en secuencia o administración simultánea con dicho compuesto adicional en el que dicho compuesto adicional es nilotinib.
- 25 17. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16 donde el compuesto es (R)-N-(4-(clorodifluorometoxi)fenil)-6-(3-hidroxipirrolidin-1-il)-5-(1H-pirazol-5-il)nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 30 18. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.