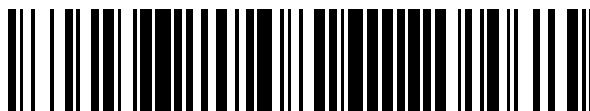


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 477**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14	(2006.01) A61K 31/496	(2006.01)
C07D 401/04	(2006.01) A61K 31/5383	(2006.01)
C07D 471/10	(2006.01) A61K 31/5386	(2006.01)
C07D 487/10	(2006.01) A61K 31/5377	(2006.01)
C07D 487/04	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
C07D 498/04	(2006.01)	
C07D 498/08	(2006.01)	
C07D 471/08	(2006.01)	
C07D 487/08	(2006.01)	
A61K 31/506	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.12.2014 PCT/CN2014/095615**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.07.2015 WO15101293**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.12.2014 E 14876154 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.06.2018 EP 3091008**

54 Título: **Inhibidor de quinasa y su uso**

30 Prioridad:

31.12.2013 CN 201310749417

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

25.10.2018

73 Titular/es:

**XUANZHU PHARMA CO., LTD. (100.0%)
2518, Tianchen Street National High-Tech
Development Zone
Jinan, Shandong 250101, CN**

72 Inventor/es:

**WU, FRANK y
CHEN, BO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 687 477 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

Inhibidor de quinasa y su uso

Campo técnico

La invención pertenece al campo de los medicamentos. En particular, la invención se refiere a un inhibidor de CDK4/6 quinasa, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros; una formulación farmacéutica, una composición farmacéutica y un kit que comprende dicho inhibidor de CDK4/6 quinasa, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros; y el uso de dicho inhibidor de CDK4/6 quinasa, y una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros. Por ejemplo, los compuestos de la invención son útiles para reducir o inhibir la actividad de la CDK4/6 quinasa en una célula y/o tratar y/o prevenir una enfermedad relacionada con cáncer mediada por CDK4/6 quinasa.

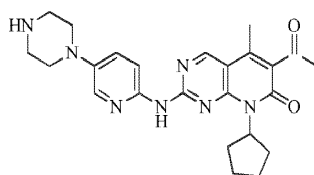
Antecedentes de la técnica

La tumorigénesis está asociada con el desequilibrio de oncogenes y antioncogenes. Para casi todos los oncogenes o antioncogenes, sus funciones y efectos finalmente convergen en el ciclo celular. Por lo tanto, el tumor se puede tomar como una enfermedad del ciclo celular (CCD), y es una de las vías para tratar el tumor mediante la regulación o el bloqueo del ciclo celular. En la actualidad, se encuentra que hay muchas moléculas asociadas con la regulación del ciclo celular, entre las cuales las quinasas dependientes de ciclina (CDK) son moléculas centrales de la red reguladora del ciclo celular. Las CDK, como subunidades catalíticas, son una clase de Ser/Thr quinasas, que participan en diferentes etapas del ciclo celular como importantes moléculas de señalización en las células. Los estudios muestran que en una red reguladora del ciclo celular con CDK como núcleo, cualquier anomalía puede producir un ciclo celular anormal y finalmente producir tumorigénesis. La familia CDK ahora tiene 21 isoformas, que actúan mediante la unión a sus ciclinas de subunidades reguladoras. Además del papel en la regulación del ciclo celular, las isoformas de CDK también participan en la regulación de la transcripción, la reparación del ADN, la diferenciación y la muerte celular programada. Sobre la base del papel clave de las CDK en la regulación de la proliferación y la muerte de las células tumorales, la familia de las CDK proporciona una oportunidad y un nuevo campo para el descubrimiento y desarrollo de fármacos antitumorales.

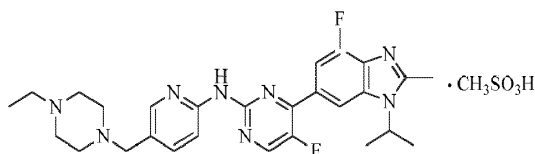
En el desarrollo de fármacos, la primera generación de inhibidores de CDK, representados por flavopiridol, UCN-01 y similares, se designan como inhibidores "pan-CDK", que bloquean todas las isoformas de la familia CDK de manera equivalente y exhiben una toxicidad relativamente alta en ensayos clínicos y algunos de ellos no se pueden administrar en una cantidad terapéuticamente efectiva. Por lo tanto, el ser humano comienza a desarrollar inhibidores selectivos de CDK para mejorar la selectividad de la terapia y evitar que las células normales sufran lesiones por algunos efectos secundarios.

Entre las isoformas de CDK implicadas en el ciclo celular, CDK4/6 cumple un papel insustituible. Las mutaciones del ciclo celular asociadas al cáncer están presentes principalmente en la fase G1 y la transición G1/S. El complejo formado por CDK4/6 y Ciclina D libera el factor E2F transcripcional unido por fosforilación (pRb) del producto antioncogénico Rb, y desencadena la transcripción de genes asociados con la fase S, de este modo se promueve que las células pasen el punto de control y transiten desde la fase G1 a la fase S aproximadamente 80% de los tumores humanos son anormales en la vía ciclina D-CDK4/6-INK4-Rb. Debido a la alteración de la vía, la fase G1 se acelera para que las células tumorales aceleren la proliferación y así adquieran una ventaja de supervivencia. Por lo tanto, la interferencia de la vía se ha convertido en una estrategia de tratamiento, y CDK4/6 se ha convertido en un nuevo objetivo antitumoral. CDK4/6 como objetivo antitumoral tiene las siguientes ventajas: (1) para la mayoría de las células proliferativas, su proliferación es dependiente de CDK2 o CDK4/6; sin embargo, los inhibidores de CDK4/6 no muestran la citotoxicidad de los inhibidores de pan-CDK", tal como la depresión de la médula ósea y la reacción intestinal; y (2) las pruebas preclínicas muestran que si el nivel de ciclina D aumenta o P16INK4a se inactiva en las células, la sensibilidad de las células a los fármacos puede aumentar; debido a que las células tumorales presentan dicho fenómeno en relación con las células normales, la propiedad de direccionamiento de los fármacos se incrementa hasta cierto punto.

Hasta el momento, no se han aprobado fármacos inhibidores de CDK para la comercialización. Una serie de inhibidores de CDK4/6 con buena selectividad, que han sido informados por algunas compañías farmacéuticas como Pfizer, Eli Lilly y Novartis, están en ensayos clínicos. Entre ellos, de particular interés son PD0332991 (palbociclib) desarrollado por Pfizer, LY2835219 (Fase III) desarrollado por Eli Lilly y LEE-011 (Fase III) desarrollado por Novartis.



PD0332991



LY2835219

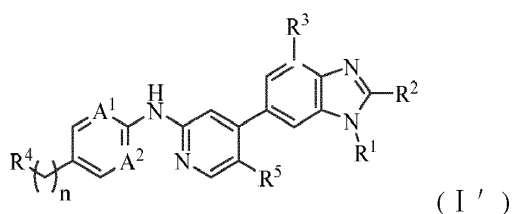
En abril de 2013, PD0332991 de Pfizer recibió la Designación de medicamento innovador de Food and Drug Administration (FDA); y en agosto de 2014, Pfizer presentó a la FDA una Solicitud de registro de medicamento (NDA) para la aprobación de PD0332991 (palbociclib) en combinación con letrozol como tratamiento de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama metastásico localmente avanzado, que son receptor de estrógenos positivo (ER+) y factor de crecimiento epidérmico humano 2 negativo (HER2-), y no recibió tratamiento sistémico previamente. Tiene un efecto muy positivo en el desarrollo de inhibidores de CDK4/6.

Con el fin de lograr un mejor efecto terapéutico para el tumor y satisfacer mejor la demanda del mercado, los inventores esperan desarrollar una nueva generación de inhibidores de CDK4/6 con alta eficacia y baja toxicidad. La invención proporciona inhibidores de CDK4/6 selectivos con una nueva estructura, y encuentra que los compuestos con tal estructura tienen buena eficacia, y pueden atravesar eficazmente la barrera hematoencefálica, lo que hace que los inhibidores de CDK sean una posible terapia para el cáncer cerebral.

Contenidos de la invención

En un aspecto, la invención se refiere a un inhibidor/compuesto dirigido a CDK4/6 quinasa. En particular, las soluciones técnicas ejemplificadas de la invención son las siguientes:

1. Un compuesto de Fórmula (I'), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros,



en la que:

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o cicloalquilo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido con Q¹, en el que Q¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ciano, carbamoilo o alquil C₁₋₆ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno o hidrógeno, y al menos uno de R³ y R⁵ es halógeno;

R⁴ se selecciona de heterociclilo de 3-8 miembros, heterociclilo fusionado de 6-14 miembros, heteroarilo de 5-8 miembros, heteroarilo fusionado de 6-14 miembros, fenilo, naftilo, heterociclilo unido con puente de 6-12 miembros o espiroheterociclilo de 6-12 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q²;

Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sulfonilo, alquilo C₁₋₆ sulfonilamino, o di-alquilo C₁₋₆ amino; o alquilo C₁₋₆, cicloalquilo de 3-8 miembros, heterociclilo de 3-8 miembros o heterociclilo unido con puente de 6-9 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente, en el que el sustituyente se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ amino, di-alquilo C₁₋₆ amino, alquilo C₁₋₆ sulfonilo, heterociclilo de 3-8 miembros o cicloalquilo de 3-8 miembros;

n se selecciona de 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

2. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 1, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

5 R² se selecciona de alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, ciano, carbamóilo o alquilo C₁₋₄ carbonilamino;

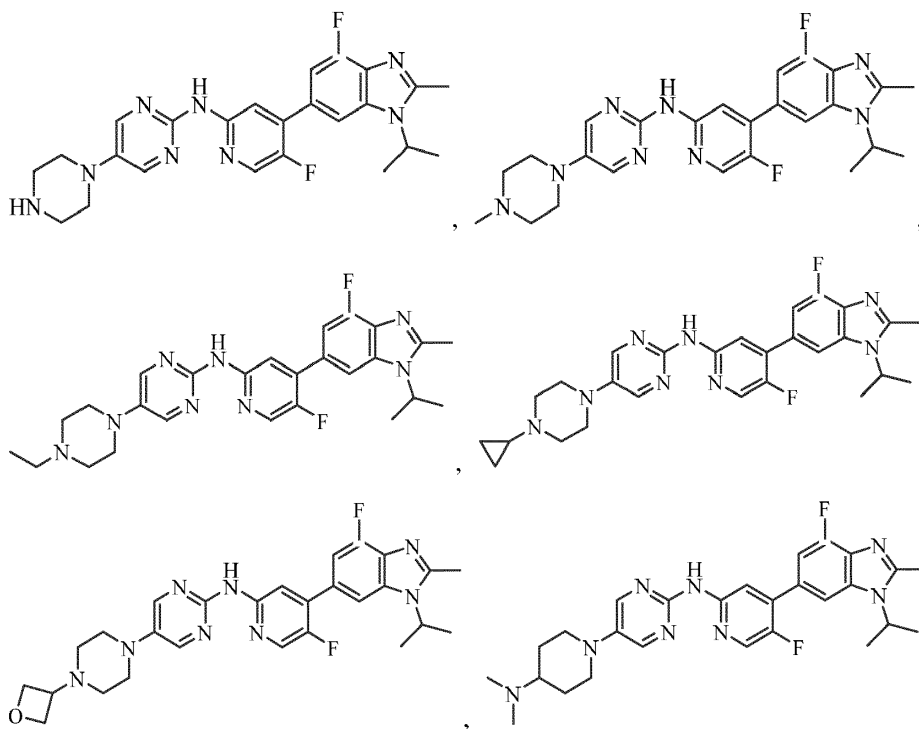
R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno;

R⁴ se selecciona de un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el "heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno" es preferentemente "un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno";

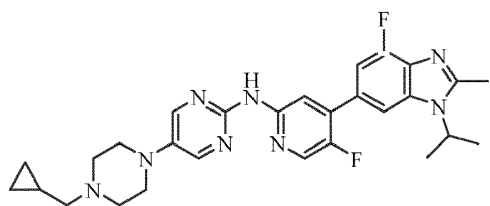
10 Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alcoxi C₁₋₄, o di-alquil C₁₋₄amino; o alquilo C₁₋₄, cicloalquilo de 3-6 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente, en el que el sustituyente se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquil C₁₋₄amino, di-alquil C₁₋₄ amino, o cicloalquilo de 3-6 miembros;

n se selecciona de 0.

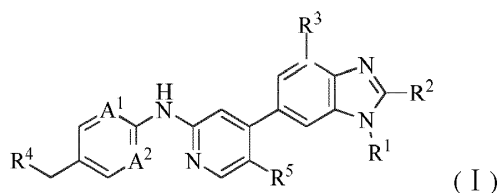
15 3. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 2, en el que el compuesto se selecciona de:



20 o



4. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 1, en el que el compuesto tiene la estructura de fórmula (I),



en la que:

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

5 R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o cicloalquilo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido con Q¹, en el que Q¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ciano, carbamoilo o alquil C₁₋₆ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno o hidrógeno, y al menos uno de R³ y R⁵ es halógeno;

10 R⁴ se selecciona de heterociclilo de 3-8 miembros, heterociclilo fusionado de 6-14 miembros, heteroarilo de 5-8 miembros, heteroarilo fusionado de 6-14 miembros, fenilo, naftilo, heterociclilo unido con puente de 6-12 miembros o espiroheterociclilo de 6-12 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, heterociclilo de 3-8 miembros o heterociclilo unido con puente de 6-9 miembros.

5. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 4, en el que

15 A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, ciano, carbamoilo o alquilo C₁₋₄ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno;

20 R⁴ se selecciona de heterociclilo 5-7 miembros, heterociclilo fusionado de 6-11 miembros, heterociclilo unido con puente de 6-11 miembros o espiroheterociclilo de 6-11 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, heterociclilo de 5-6 miembros o heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros.

6. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 5, en el que

25 A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ es isopropilo;

R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son cada uno de modo independiente F;

30 R⁴ se selecciona de heterociclilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

7. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 6, en el que

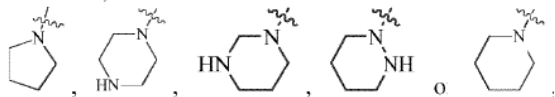
R² es metilo;

35 R⁴ se selecciona de un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno se une al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, o un heterociclilo unido con puente de 8 miembros que contiene nitrógeno;

40 en el que el heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1 a 2 átomos de nitrógeno;

8. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 7, en el que

R⁴ se selecciona de



5 cada uno opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de alquilo C₁₋₄ o un heterociclilo unido con puente de 8 miembros que contiene nitrógeno.

9. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 5, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

10 R¹ es isopropilo;

R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son cada uno de modo independiente F;

15 R⁴ se selecciona de heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

10. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 9, en el que

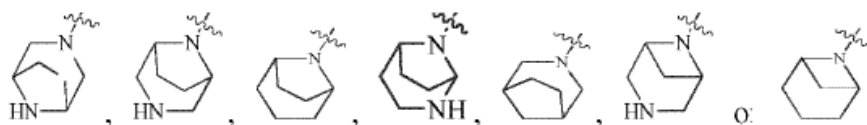
R² es metilo;

20 R⁴ se selecciona de un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno está unido al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, o un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno;

en el que un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1 a 2 átomos de nitrógeno.

25 11. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 10, en el que

R⁴ se selecciona de



30 cada uno opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de alquilo C₁₋₄ o un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno.

12. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 5, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ es isopropilo;

35 R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son F;

R⁴ se selecciona de heterociclilo fusionado 6-10 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

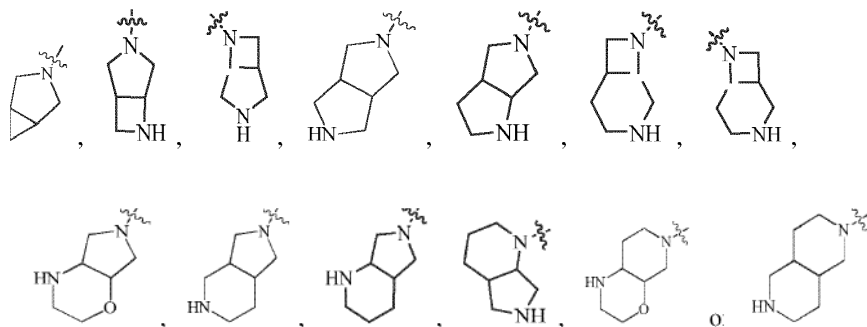
13. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 12, en el que

R² es metilo;

- 5 R⁴ se selecciona de un heterociclilo que contiene nitrógeno fusionado 6-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos idénticos o diferentes y está opcionalmente sustituido con Q²; en el que los heteroátomos preferentemente se seleccionan de átomo de nitrógeno y átomo de oxígeno, y contienen al menos un átomo de nitrógeno, y el heterociclilo fusionado 6-10 miembros está unido al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, o alquilo C₁₋₄.

- 10 14. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 13, en el que

R⁴ se selecciona de



cada uno opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de amino o alquilo C₁₋₄.

- 15 15. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 5, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ es isopropilo;

R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

- 20 R³ y R⁵ son F;

R⁴ se selecciona de espiroheterociclilo de 7-11 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

- 25 16. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 15, en el que

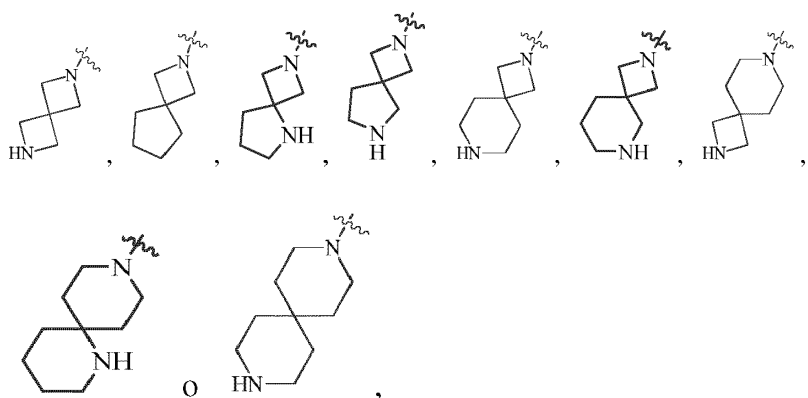
R² se selecciona de metilo;

- 30 R⁴ se selecciona de un espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno está unido al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, de alquilo C₁₋₄;

en el que el espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1 a 2 átomos de nitrógeno.

- 35 17. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 16, en el que

R⁴ se selecciona de



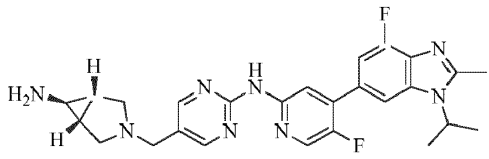
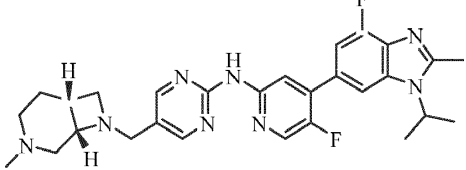
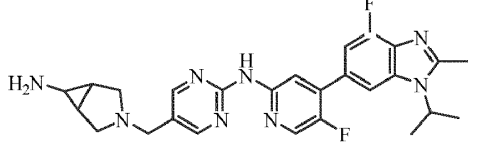
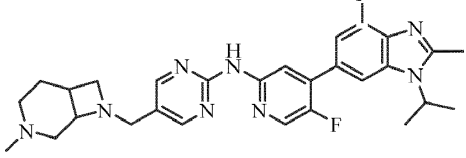
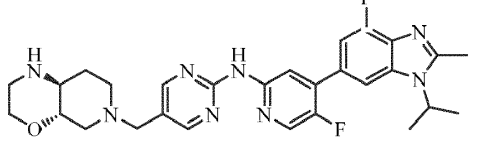
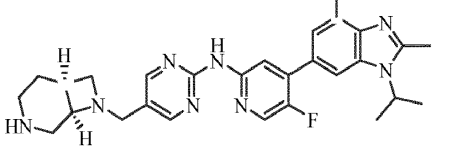
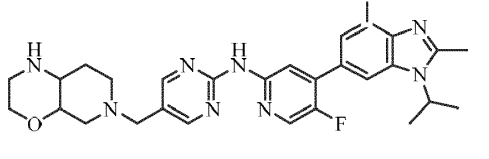
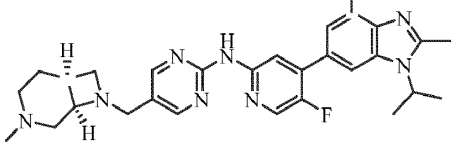
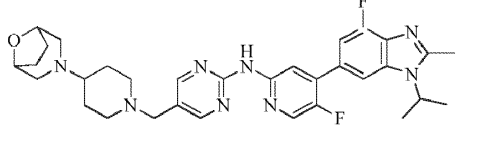
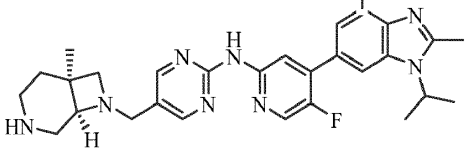
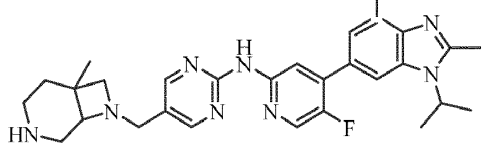
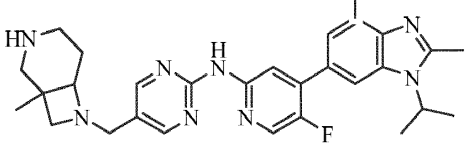
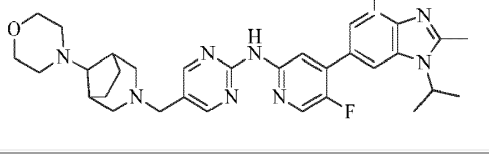
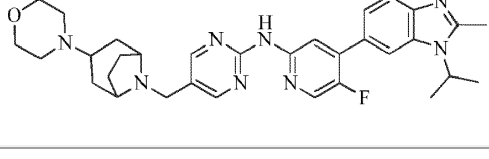
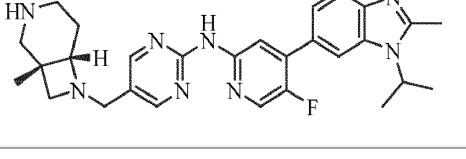
cada uno opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de alquilo C₁₋₄.

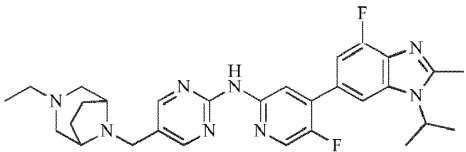
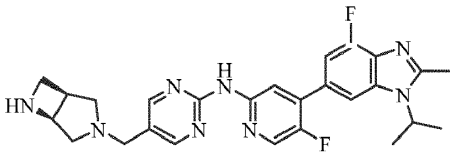
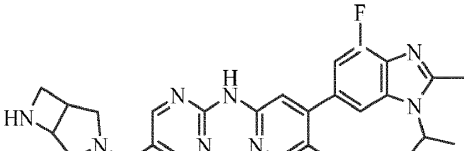
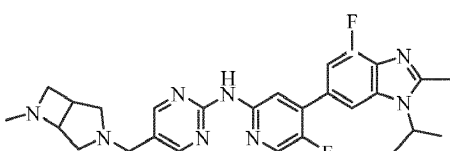
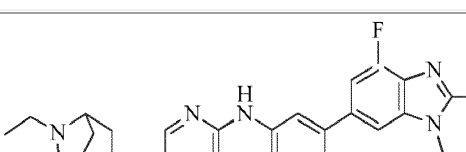
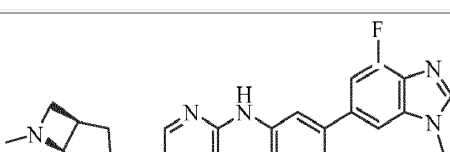
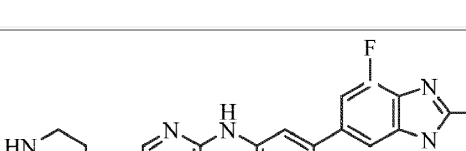
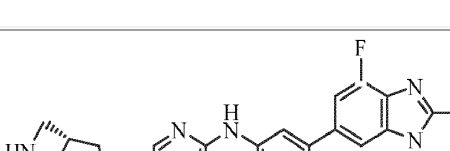
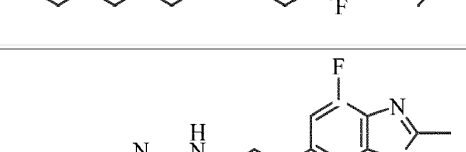
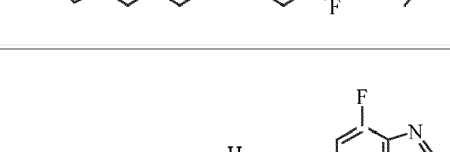
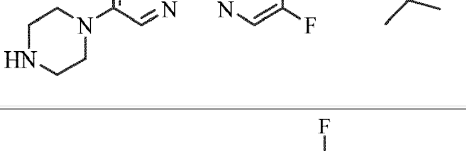
- 5 18. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la Solución 1, en el que el compuesto se selecciona de el compuestos mostrados en la Tabla A.

Tabla A: Una parte de los compuestos de la invención

Núm.	Fórmula	Núm.	Fórmula
1		18	
2		19	
3		20	
4		21	

Núm.	Fórmula	Núm.	Fórmula
5		22	
6		23	
6-1		23-1	
24-1		24	
6-2		25	
6-2-1		25-1	
7		26	
7-1		26-1	

Núm.	Fórmula	Núm.	Fórmula
8		27	
8-1		27-1	
9		28	
9-1		29	
10		30	
30-1		31-1	
11			
12		31	

Núm.	Fórmula	Núm.	Fórmula
13		32	
32-1		33-1	
14		33	
15		34	
16		35	
17			

La invención también se refiere a los usos de los compuestos descriptos. En consecuencia, la invención también se refiere a las siguientes soluciones técnicas ejemplificadas:

5 19. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con cualquiera de las Soluciones 1-18, y opcionalmente uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con la Solución 19, que además comprende uno o más agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales.

10 21. La composición farmacéutica de acuerdo con la Solución 20, en el que los agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales se seleccionan de uno o más de: metotrexato, capecitabina, gemcitabina, doxifluridina, pemetrexed disódico, pazopanib, imatinib, erlotinib, lapatinib, gefitinib, vandetanib, herceptin, bevacizumab, rituximab, trastuzumab, paclitaxel, vinorelbina, docetaxel, doxorubicina, hidroxycamptotecina, mitomicina, epirubicina, pirarubicina, bleomicina, letrozol, tamoxifeno, fulvestrant, triptorelin, flutamida, leuporelin,

anastrozol, ifosfamida, busulfan, ciclofosfamida, carmustina, nimustina, semustina, meclorethamine, melfalan, clorambucilo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, lobaplatino, topotecano, camptotecina, topotecan, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, Actinomicina D, daunorrubicina, adriamicina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina y aminoglutetimida.

5 22. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con cualquiera de las Soluciones 1-18, para usar en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad relacionada con cáncer mediada por CDK4/6 quinasa en un sujeto.

10 23. El compuesto para usar de acuerdo con la Solución 22, en el que las enfermedad relacionada con cáncer se selecciona de tumor cerebral, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso, carcinoma de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de ovario, carcinoma peritoneal, carcinoma pancreático, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de recto, cáncer de hígado, carcinoma renal, adenocarcinoma esofágico, cáncer escamoso esofágico, cáncer de próstata, cáncer de conducto reproductor femenino, cáncer in situ, linfoma, neurofibromas, carcinoma de tiroides, osteocarcinoma, cáncer de piel, cáncer cerebral, cáncer de colon, cáncer testicular, tumor del estroma gastrointestinal, neoplasias de próstata, tumor de mastocitos, mieloma múltiple, melanoma, glioma o sarcoma.

15 24. El compuesto for use de acuerdo con la Solución 22 o 23, en el que el sujeto es mamífero, como bovino, equino, caprino, suído, canino, felino, roedor y primate; en el que el sujeto particularmente preferido es el ser humano.

20 25. El compuesto para usar de acuerdo con cualquiera de las Soluciones 22-24, en el que el medicamento además comprende uno o más agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales; preferentemente, los agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales se seleccionan de uno o más de: metotrexato, capecitabina, gemcitabina, doxifluridina, pemetrexed disodium, pazopanib, imatinib, erlotinib, lapatinib, gefitinib, vandetanib, herceptina, bevacizumab, rituximab, trastuzumab, paclitaxel, vinorelbina, docetaxel, doxorubicina, hidroxycamptotecina, mitomicina, epirubicina, pirarubicina, bleomicina, letrozol, tamoxifeno, fulvestrant, triptorelin, flutamida, leuprorelina, anastrozol, ifosfamida, busulfan, ciclofosfamida, carmustina, nimustina, semustina, meclorethamine, melphalan, clorambucilo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, lobaplatino, topotecan, camptotecina, topotecan, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, Actinomicina D, daunorrubicina, adriamicina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina y aminoglutetimida.

solvatos de estos, o sus estereoisómeros de acuerdo con cualquiera de las Soluciones 1-18 o la farmacéutica

Contenido detallado de la invención

30 En la descripción y las reivindicaciones de la presente solicitud, los compuestos se nombran de acuerdo con sus fórmulas, y si el nombre y la fórmula para el mismo compuesto no son concordantes entre sí, prevalecerá la fórmula.

En la presente solicitud, a menos que se especifique lo contrario, los términos científicos y técnicos utilizados en la presente tienen los significados que generalmente comprende un experto en la técnica. Sin embargo, para comprender mejor la invención, se proporcionan definiciones y explicaciones para una parte de los términos.

35 Además, si las definiciones y explicaciones de los términos proporcionados en la presente solicitud son diferentes de los significados generalmente entendidos por un experto en la materia, prevalecerán las definiciones y explicaciones de los términos proporcionados en la presente solicitud.

El término "Me" usado en la presente es metilo.



40 En la invención, la línea ondulada " " en un sustituyente significa que el radical del sustituyente está unido al radical de un esqueleto (tal como un anillo de fenilo) a través de un enlace químico en la posición de la línea ondulada.

El término "halógeno" usado en la presente se refiere a átomo de F, Cl, Br e I.

45 El término "alquilo C₁₋₆" usado en la presente se refiere a un alquilo lineal o ramificado, que incluyen "alquilo C₁₋₄", "alquilo C₁₋₃" y similares, en el que sus ejemplos incluyen, pero sin limitación metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, 2-metilpropilo, 1-metilpropilo, 1,1-dimetiletilo, n-pentilo, 3-metilbutilo, 2-metilbutilo, 1-metilbutilo, 1-etilpropilo, n-hexilo, 4-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-metilpentilo, 1-metilpentilo, 3,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 1,1-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 2-etilbutilo, 1,2-dimetilpropilo, etc.

50 El términos "alcoxi C₁₋₆, alquil C₁₋₆ carbonilamino, alquilo C₁₋₆ sulfonilo, alquil C₁₋₆ sulfonilamino, alquil C₁₋₆ amino, di-alquilo C₁₋₆ amino" usado en la presente se refieren a los grupos en la forma de alquil C₁₋₆-O-, alquil C₁₋₆-C(O)NH-, alquil C₁₋₆-SO₂-, alquil C₁₋₆-SO₂NH-, alquil C₁₋₆-NH-, (alquil C₁₋₆)₂-N-, en el que el término "alquilo C₁₋₆" tiene los mismos significados que se definieron anteriormente.

Los términos "alcoxi C₁₋₄", "alquil C₁₋₄ carbonilamino", "alquil C₁₋₄ sulfonilo", "alquil C₁₋₄ sulfonilamino", "alquil C₁₋₄ amino", "di-alquil C₁₋₄ amino" usado en la presente se refieren a los grupos formados en la forma de alquilo C₁₋₄-O-, alquilo C₁₋₄-C(O)NH-, alquilo C₁₋₄-SO₂-, alquilo C₁₋₄-SO₂NH-, alquilo C₁₋₄-NH-, (alquilo C₁₋₄)₂-N-, en el que el término "alquilo C₁₋₄" tiene los mismos significados que se definieron anteriormente.

- 5 El término "cicloalquilo de 3-8 miembros" usado en la presente se refiere a un cicloalquilo derivado de la eliminación de un hidrógeno de un cicloalcano que tiene 3-8 átomos de carbono, que incluyen, por ejemplo, "cicloalquilo de 3-6 miembros" y "cicloalquilo de 4-6 miembros", etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, etc.

- 10 El término "heterociclilo de 3-8 miembros" usado en la presente incluye por ejemplo "heterociclilo de 3-7 miembros", "heterociclilo de 3-6 miembros", "heterociclilo de 4-7 miembros", "heterociclilo de 4-6 miembros", "heterociclilo de 5-7 miembros", "heterociclilo de 5-6 miembros", "heterociclilo que contiene nitrógeno de 5-6 miembros", "heterociclilo de 6 miembros", "heterociclilo que contiene nitrógeno de 6 miembros", etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación: aziridinilo, 2*H*-aziridinilo, diazaciclopropilo, 3*H*-diazaciclopropenilo, azetidino, 1,4-dioxano, 1,3-dioxano, 1,3-dioxaciclopentilo, 1,4-dioxo-ciclohexadieno, tetrahydrofurilo, dihidropirrolilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, 4,5-dihidroimidazolilo, pirazolidinilo, 4,5-dihidropirazolilo, 2,5-dihidrotienilo, tetrahidrotienilo, 4,5-dihidrotiazolilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, hexahidropirimidinilo, hexahidropiridazinilo, 4,5-dihidro-oxazolilo, 4,5-dihidroisoxazolilo, 2,3-dihidroisoxazolilo, 2*H*-1,2-oxazinilo, 6*H*-1,3-oxazinilo, 4*H*-1,3-tiazinilo, 6*H*-1,3-tiazinilo, 2*H*-piranilo, 2*H*-piran-2-ona, 3,4-dihidro-2*H*-piranilo, etc., preferentemente "heterociclilo que contiene nitrógeno de 5-6 miembros".

- 20 El término "unido al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno" usado en la presente se refiere a un grupo que contiene nitrógeno (por ejemplo, un heterociclilo que contiene nitrógeno, tal como "heterociclilo que contiene nitrógeno de 5-6 miembros" o "heterociclilo que contiene nitrógeno de 6 miembros"; un heterociclilo fusionado que contiene nitrógeno, tal como "heterociclilo fusionado que contiene nitrógeno de 6-10 miembros"; un heterociclilo unido por puente que contiene nitrógeno, tal como "heterociclilo unido por puente que contiene nitrógeno de 7-9 miembros" o "heterociclilo unido por puente que contiene nitrógeno de 8 miembros"; un
25 espiroheterociclilo que contiene nitrógeno, tal como "espiroheterociclilo que contiene nitrógeno de 7-11 miembros") unido al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno.

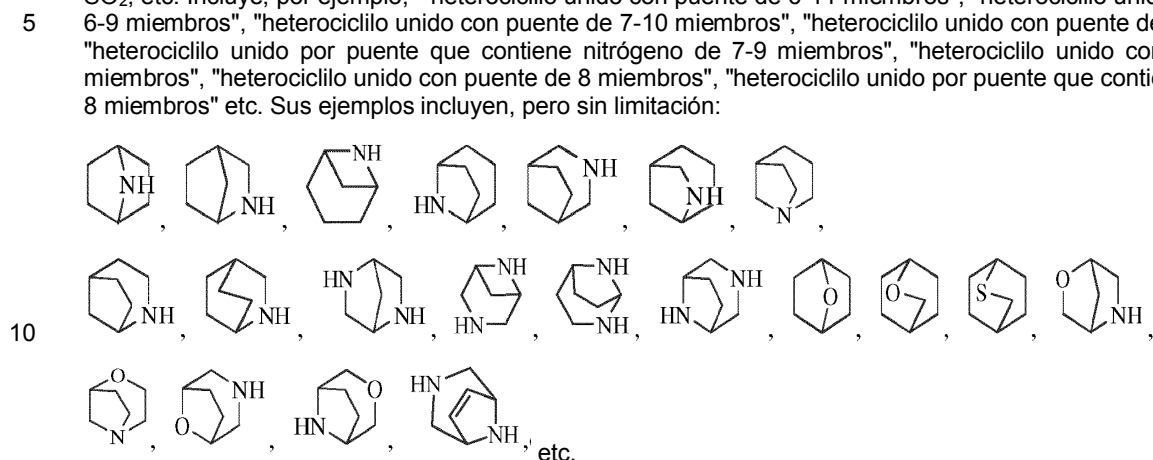
- De acuerdo con las reglas de nomenclatura IUPAC, el anillo fusionado de la invención se refiere a una estructura de anillo fusionado formado por dos o más estructuras anulares que comparten dos átomos adyacentes (es decir, comparten un enlace). El anillo unido con puente de la invención se refiere a una estructura anular unido con puente
30 formada por dos o más estructuras anulares que comparten dos átomos de carbono no adyacentes. El anillo espiro de la invención se refiere a una estructura de espiración formada por dos o más estructuras de anillo que comparten un átomo de carbono.

- El término "heterociclilo fusionado de 6-14 miembros" usado en la presente se refiere a una estructura de anillo fusionado de 6-14 miembros que contienen al menos un heteroátomo formado por dos o más estructuras de anillo
35 que comparten dos átomos adyacentes (es decir, comparten un enlace), que incluye, por ejemplo, "heterociclilo fusionado de 6-11 miembros", "heterociclilo fusionado 6-10 miembros", "heterociclilo fusionado de 7-10 miembros", "heterociclilo fusionado de 9-10 miembros", "heterociclilo fusionado que contiene nitrógeno de 6-10 miembros" etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación: 3-azabicyclo[3.1.0]hexano, 3,6-diazabicyclo[3.2.0]heptano, 3,8-diazabicyclo[4.2.0]octano, 3,7-diazabicyclo[4.2.0]octano, octahidropirrol[3,4-*c*]pirrol, octahidropirrol[3,4-*b*]pirrol, octahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazina, octahidro-1*H*-pirrol[3,4-*c*]piridina, octahidro-1*H*-pirrol[3,4-*b*]piridina, octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazina, decahidro-2,6-naftaleno, tetrahidroimidazo[4,5-*c*]piridinilo, 3,4-dihidroquinazolinilo, 1,2-dihidroquinoxalinilo, benzo[*d*][1,3]dioxaciclopentenilo, 1,3-dihidroisobenzofurilo, 2*H*-cromenilo, 2*H*-cromen-2-ona, 4*H*-cromenilo, 4*H*-cromen-4-ona, cromanilo, 4*H*-1,3-benzoxazinilo, 4,6-dihidro-1*H*-furo[3,4-*d*]imidazolilo, 3*a*,4,6,6*a*-tetrahidro-1*H*-furo[3,4-*d*]imidazolilo, 4,6-dihidro-1*H*-tieno[3,4-*d*]imidazolilo, 4,6-dihidro-1*H*-pirrol[3,4-*d*]imidazolilo, 4,5,6,7-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]imidazolilo, etc.
45

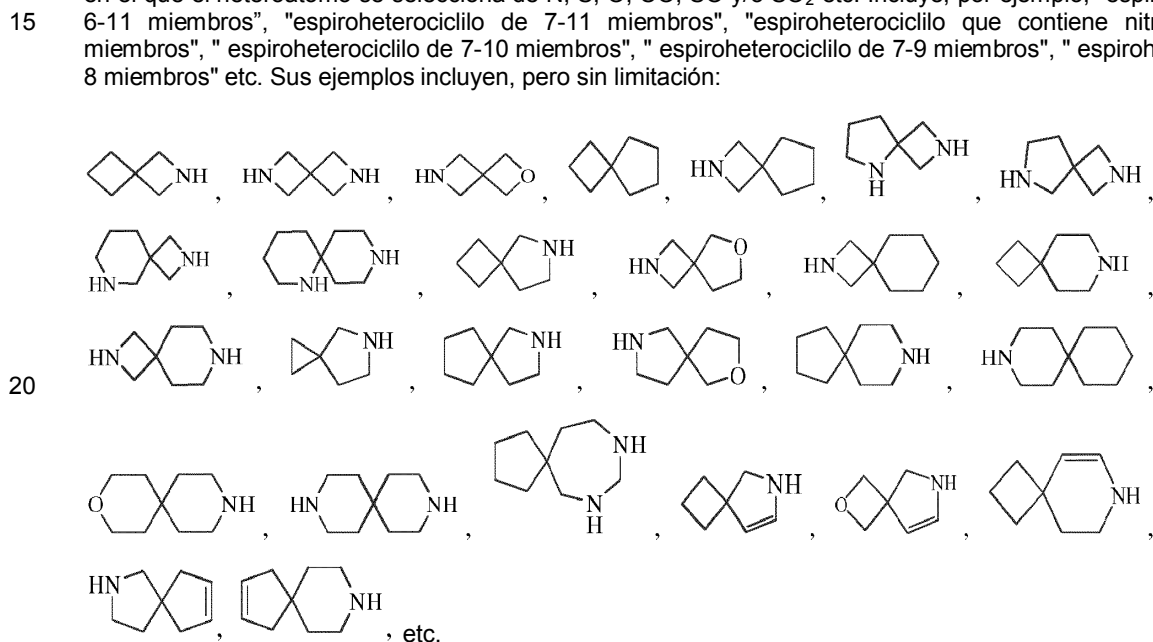
- El término "heteroarilo de 5-8 miembros" usado en la presente, incluye, por ejemplo, "heteroarilo de 5-7 miembros", "heteroarilo de 5-6 miembros" etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación: furilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, piridilo, 2-piridona, 4-piridona, pirimidinilo, 1,4-dioxociclohexadieno, 2*H*-1,2-oxazinilo, 4*H*-1,2-oxazinilo, 6*H*-1,2-oxazinilo, 4*H*-1,3-oxazinilo, 6*H*-1,3-oxazinilo, 4*H*-1,4-oxazinilo, piridazinilo, pirazinilo, 1,2,3-triazinilo, 1,3,5-triazinilo, 1,2,4,5-tetrazinilo, azepinilo, 1,3-diazepinilo, azocinilo, etc., preferentemente "heteroarilo de 5-6 miembros".
50

- El término "heteroarilo fusionado de 6-14 miembros" usado en la presente se refiere a una estructura de anillo fusionado de 6-14 miembros aromática que contiene al menos un heteroátomo formado por dos o más estructuras
55 de anillo que comparten dos átomos adyacentes (es decir, comparten un enlace), que incluye, por ejemplo, "heteroarilo fusionado de 6-10 miembros", "heteroarilo fusionado de 7-10 miembros", "heteroarilo fusionado de 9-10 miembros" etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación: benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotienilo, indolilo, isoindolilo, benzoxazolilo, benzoimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, quinolinilo, quinolin-2-ona, quinolin-4-ona, isoquinolin-1-ona, isoquinolinilo, acridinilo, fenantridinilo, benzopiridazinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, fenazinilo, pteridinilo, purinilo, naftiridinilo, fenazina, fenotiazina, etc.
60

El término "heterociclilo unido con puente de 6-12 miembros" usado en la presente se refiere a una estructura de anillo unido con puente de 6-12 miembros que contiene al menos un heteroátomo, formado por cualquiera de dos anillos que comparten dos átomos no adyacentes, en el que el heteroátomo se selecciona de N, S, O, CO, SO y/o SO₂, etc. Incluye, por ejemplo, "heterociclilo unido con puente de 6-11 miembros", "heterociclilo unido con puente de 6-9 miembros", "heterociclilo unido con puente de 7-10 miembros", "heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros", "heterociclilo unido por puente que contiene nitrógeno de 7-9 miembros", "heterociclilo unido con puente de 7-8 miembros", "heterociclilo unido con puente de 8 miembros", "heterociclilo unido por puente que contiene nitrógeno de 8 miembros" etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación:

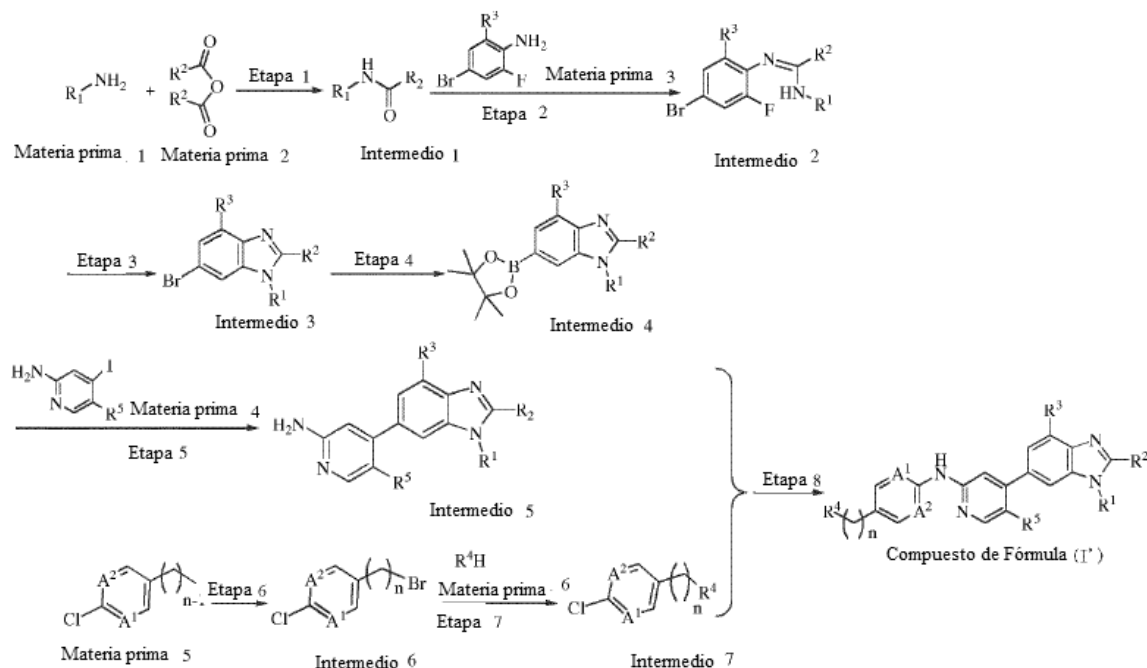


El término "espiroheterociclilo de 6-12 miembros" usado en la presente se refiere a una estructura de espiroanillo de 6-12 miembros que contiene al menos un heteroátomo, formado por al menos dos anillos que comparten un átomo, en el que el heteroátomo se selecciona de N, S, O, CO, SO y/o SO₂ etc. Incluye, por ejemplo, "espiroheterociclilo de 6-11 miembros", "espiroheterociclilo de 7-11 miembros", "espiroheterociclilo que contiene nitrógeno de 7-11 miembros", "espiroheterociclilo de 7-10 miembros", "espiroheterociclilo de 7-9 miembros", "espiroheterociclilo de 7-8 miembros" etc. Sus ejemplos incluyen, pero sin limitación:



La invención también proporciona un procedimiento para preparar el compuesto de Fórmula (I'), que incluye, pero no se limita al siguiente esquema (en el que los significados de las abreviaturas se describen como sigue: DCM: diclorometano; DIPEA: *N,N*-diisopropiletilamina; DMF: *N,N*-dimetilformamida; DMSO: dimetil sulfóxido; EA: acetato de etilo; HATU: hexafluorofosfato de 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio; MeOH: metanol; NBS: *N*-bromobutanamida; PE: éter de petróleo; THF: tetrahidrofurano; Xant-fos: 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetil xanteno; x-fos:

2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo):



en el que, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , A^1 , A^2 tienen los mismos significados definidos anteriormente, X representa halógeno, seleccionado de F, Cl, Br y I; y agente halogenante se selecciona de I_2 y Br_2 .

Las etapas ejemplificadas son las siguientes:

5 1. Preparación del intermedio 1

La materia prima 1 y una base orgánica se disuelven en un disolvente orgánico, y la materia prima 2 se añade gota a gota y lentamente a temperatura baja. La reacción se lleva a cabo bajo agitación. Después de la reacción, la mezcla de reacción se extrae; la fase orgánica se seca y concentra para obtener el Intermedio 1, en el que el disolvente orgánico es preferentemente DCM o 1,4-dioxano, y la base orgánica es preferentemente trietilamina.

10 2. Preparación del intermedio 2

El Intermedio 1, la materia prima 3 y una base orgánica se disuelven en un disolvente orgánico, y se añade oxicloruro de fósforo gota a gota. Después de la reacción, se añade una base para ajustar el pH de la mezcla de reacción a neutro. La mezcla resultante se extrae, y la fase orgánica separada se seca y concentra para obtener el Intermedio 2, en el que el disolvente orgánico es preferentemente DCM o 1,2-dicloroetano, y la base orgánica es preferentemente trietilamina.

15 3. Preparación del intermedio 3

El Intermedio 2 se disuelve en un disolvente orgánico, y se añade terc-butóxido de potasio. La mezcla resultante se calienta a 100 °C y reacciona durante 2 h. Después de la reacción, se añade agua para inactivar la reacción. La mezcla de reacción se extrae, y la fase orgánica se seca y concentra. El residuo resultante se somete a cromatografía en columna para obtener Intermedio 3, en el que el disolvente orgánico es preferentemente DCM.

20 4. Preparación del intermedio 4

El Intermedio 3 y borato de pinacol se disuelven en un disolvente orgánico; y se añaden diacetato de paladio, triciclohexilo de fósforo y acetato de potasio. Bajo la protección del gas nitrógeno, la reacción se lleva a cabo bajo calentamiento. Después de la reacción, se añaden agua y un disolvente orgánico para extraer la mezcla de reacción. La fase orgánica se seca, concentra y se separa por cromatografía en columna para obtener el Intermedio 4, en el que el disolvente orgánico es preferentemente DMF o 1, 4-dioxano.

25 5. Preparación del intermedio 5

Materia prima 4 y el Intermedio 4 se disuelven en un disolvente orgánico, y se añaden en base inorgánica y tetrakis(trifenilfosfina)paladio. Bajo la protección de gas nitrógeno, la reacción se lleva a cabo bajo calentamiento. Después de la reacción, se añade agua. La mezcla de reacción se extrae, y la fase orgánica se seca y concentra. El residuo resultante se separa por cromatografía en columna para obtener Intermedio 5, en el que el disolvente orgánico es preferentemente 1,4-dioxano o DMF.

6. Preparación del intermedio 6

La materia prima 5 se disuelve en un disolvente orgánico, y se añaden peróxido de benzoilo y NBS. La reacción se lleva a cabo bajo calentamiento. Después de la reacción, la mezcla de reacción se filtra, y se concentra el filtrado. El residuo resultante se separa por cromatografía en columna para obtener Intermedio 6, en el que el disolvente orgánico es preferentemente tetracloruro de carbono.

7. Preparación del intermedio 7

El Intermedio 6 y la materia prima 6 se disuelven en un disolvente orgánico, y se añade una base inorgánica. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente. Después de la reacción, la mezcla de reacción se filtra, el filtrado se concentra, y el residuo se separa por cromatografía en columna para obtener el Intermedio 7, en el que el disolvente orgánico es preferentemente acetonitrilo.

8. Preparación de compuesto de Fórmula (I')

El Intermedio 5 y el Intermedio 7 se disuelven en un disolvente orgánico; y se añaden tris(dibencilidenacetona)dipaladio, 2-diciclohexilfosfina-2',4',6'-triisopropilbifenilo, y carbonato de cesio. Bajo la protección de gas nitrógeno, la reacción se lleva a cabo bajo calentamiento. Después de la reacción, se añade agua. La mezcla de reacción se extrae, y la fase orgánica se seca y concentra. El residuo resultante se separa por cromatografía en columna para obtener el compuesto de Fórmula (I'), en el que el disolvente orgánico es preferentemente 1,4-oxano o DMF.

La materia prima 6 es amina primaria o amina secundaria, etc.

"Una sal farmacéuticamente aceptable" del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) de acuerdo con la invención se refiere a una sal formada por la reacción de grupos ácidos (por ejemplo, -COOH, -OH, -SO₃H, etc) en el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) con cationes inorgánicos u orgánicos adecuados (base), incluyendo una sal formada con metal alcalino o metal alcalinotérreo, sal de amonio y una sal formada con una base orgánica que contiene nitrógeno; y una sal formada por la reacción del grupo básico (por ejemplo, -NH₂, etc.) en el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) con aniones inorgánicos u orgánicos adecuados (ácido), incluyendo ácido inorgánico y ácido carboxílico orgánico.

"Un éster" del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) de acuerdo con la invención se refiere a un éster formado por la reacción de esterificación del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) con un alcohol cuando el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) tiene un grupo carboxilo; o un éster formado por la reacción de esterificación del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) con un ácido orgánico, ácido inorgánico o sal de ácido orgánico, etc., cuando el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) tiene un grupo hidroxilo. En presencia de ácido o base, un éster se puede hidrolizar para producir el ácido o alcohol correspondiente.

"Un solvato" del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) de acuerdo con la invención se refiere a una sustancia formada por su asociación con molécula de disolvente. El disolvente puede ser un disolvente orgánico (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, acetonitrilo, etc.) y agua, etc. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I) de acuerdo con la invención puede formar un alcoholato con etanol, o forma un hidrato con agua.

"Estereoisomerismo" del compuesto de acuerdo con la invención se divide en isomería conformacional e isomería configuracional, en la que la isomería configuracional se divide además en isomería cis-trans e isomería óptica. La isomería conformacional es una forma de estereoisomería en la que rotaciones o distorsiones de enlaces C-C individuales producen diferentes disposiciones espaciales de átomos o grupos atómicos en una molécula orgánica con una cierta configuración, comúnmente en compuestos de alcano y cicloalcano, tal como conformaciones de ciclohexano con conformeros de silla y bote. "Estereoisómeros" significa que los compuestos de acuerdo con la invención tienen uno o más centros de asimetría, y por lo tanto pueden ser racimos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas de diastereoisómeros y diastereoisómeros individuales. Los compuestos de acuerdo con la invención tienen centros de asimetría, que conducen independientemente a dos isómeros ópticos. El alcance de la invención incluye todos los posibles isómeros ópticos y mezclas de diastereoisómeros, así como compuestos puros o parcialmente puros. Si los compuestos de acuerdo con la invención tienen doble enlace carbono-carbono de alqueno, a menos que se especifique lo contrario, los compuestos de acuerdo con la invención incluyen isómeros cis e isómeros trans. Los compuestos de acuerdo con la invención pueden estar presentes en forma de tautómeros, que tienen sitios de conexión de hidrógeno diferentes debido a uno o más desplazamientos de doble enlace. Por ejemplo, la cetona y su forma enol son tautómeros ceto-enol. Diversos tautómeros y mezclas de los mismos están todos incluidos en los compuestos de acuerdo con la invención. Todos los enantiómeros,

diastereoisómeros, racemos, isómeros cis-trans, tautómeros, isómeros geométricos y epímeros del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), y sus mezclas entran dentro del alcance de la invención.

La invención además proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros, y opcionalmente uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica se puede preparar en cualquier forma farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede administrar a un paciente o sujeto que lo necesite por cualquier vía adecuada, tal como oral, parenteral, rectal o intrapulmonar, etc. Cuando se administra por vía oral, la composición farmacéutica se puede preparar en una formulación sólida convencional, tal como comprimido, cápsula, píldora y gránulo; o se puede preparar en una formulación líquida oral, tal como solución oral, suspensión oral y jarabe. Cuando la composición farmacéutica se prepara como una formulación oral, se pueden añadir cargas, agentes aglutinantes, agentes desintegrantes, lubricantes adecuados y similares. Cuando se administra por vía parenteral, la composición farmacéutica se puede preparar en una inyección, que incluye inyección, polvo estéril para inyección y solución concentrada para inyección. Cuando la composición farmacéutica se prepara en una inyección, se pueden usar métodos convencionales en el campo farmacéutico. Al preparar una inyección, no se pueden añadir aditivos o se añaden aditivos adecuados de acuerdo con las propiedades del fármaco. Cuando se administra por vía rectal, la composición farmacéutica se puede preparar en un supositorio, etc. Cuando se administra por vía intrapulmonar, la composición farmacéutica se puede preparar en inhalante, o agente de pulverización, etc.

Además del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención también puede comprender uno o más agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales. Los agentes antitumorales y/o inmunosupresores incluyen, pero sin limitación metotrexato, capecitabina, gemcitabina, doxifluridina, pemetrexed disodium, pazopanib, imatinib, erlotinib, lapatinib, gefitinib, vandetanib, herceptina, bevacizumab, rituximab, trastuzumab, paclitaxel, vinorelbina, docetaxel, doxorubicina, hidroxycamptotecina, mitomicina, epirubicina, pirarubicina, bleomicina, letrozol, tamoxifeno, fulvestrant, triptorelin, flutamida, leuporelin, anastrozol, ifosfamida, busulfan, ciclofosfamida, carmustina, nimustina, semustina, mecloretamina, melfalan, clorambucilo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, lobaplatino, topotecan, camptotecina, topotecano, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 6-mercaptopurine, 6-tioguanine, azatioprina, actinomicina D, daunorubicina, adriamicina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina y aminoglutetimida.

La invención además proporciona el compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención, para usar en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad relacionada con cáncer mediada por CDK4/6 quinasa en un sujeto. En una realización preferida, la enfermedad relacionada con cáncer se selecciona de tumor cerebral, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso, carcinoma de vejiga, cáncer gástrico, cáncer ovárico, peritoneal carcinoma, carcinoma pancreático, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de recto, cáncer de hígado, carcinoma renal, adenocarcinoma esofágico, cáncer escamoso esofágico, cáncer de próstata, cáncer de conducto reproductor femenino, cáncer in situ, linfoma, neurofibromas, carcinoma de tiroides, osteocarcinoma, cáncer de piel, cáncer cerebral, cáncer de colon, cáncer testicular, tumor del estroma gastrointestinal, neoplasias de próstata, tumor de mastocitos, mieloma múltiple, melanoma, glioma o sarcoma.

En la invención, el sujeto o paciente puede ser cualquier animal, preferentemente mamífero, tal como bovino, equino, caprino, suídos, canino, felino, roedor, y primate; en el que el sujeto particularmente preferido es el ser humano.

La descripción además proporciona un procedimiento para tratar y/o prevenir una enfermedad relacionada con cáncer mediada por CDK4/6 quinasa, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéutica y/o profilácticamente del compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención o de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Como se usa en la presente, el término "una cantidad efectiva" se refiere a una cantidad que es suficiente para lograr o al menos lograr parcialmente un efecto deseado. Por ejemplo, una cantidad efectiva para prevenir una enfermedad (tal como una enfermedad relacionada con el cáncer mediada por CDK4/6 quinasa) se refiere a una cantidad que es suficiente para prevenir, suprimir o retrasar el desarrollo de la enfermedad (tal como una enfermedad relacionada con cáncer mediado por CDK4/6 quinasa); una cantidad terapéuticamente efectiva se refiere a una cantidad que es suficiente para curar o al menos suprimir parcialmente una enfermedad y sus complicaciones en un paciente con la enfermedad. Está completamente dentro de la capacidad de una persona experta en la técnica determinar tal cantidad efectiva. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva dependerá de la gravedad de una enfermedad a tratar, el estado general del sistema inmunitario en un paciente, las condiciones generales de un paciente tales como la edad, peso corporal y sexo, vía de administración de un fármaco, y otra terapia usada en combinación, y similares.

Como se describe en detalle anteriormente, los compuestos o composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar a un sujeto que lo necesite por cualquier vía adecuada en cualquier forma adecuada. Por ejemplo, los compuestos o composición farmacéutica de la invención se pueden administrar a un sujeto que lo

necesite por vía oral, parenteral, rectal o intrapulmonar, etc. Los compuestos o composición farmacéutica de la invención pueden ser comprimidos, cápsulas, píldoras, gránulos, soluciones, suspensiones, jarabes, inyecciones (que incluye inyección, polvo estéril para inyección y solución concentrada para inyección), supositorios, inhalantes o agentes de pulverización.

- 5 Además, el procedimiento se puede realizar en cualquier sujeto, preferentemente mamífero, tal como bovino, equino, caprino, suidos, canino, felino, roedor y primate; en el que el sujeto particularmente preferido es ser humano.

Además, como se describe en detalle anteriormente, el procedimiento es útil para tratar y/o prevenir varias enfermedades relacionadas con cáncer mediados por CDK4/6 quinasa, que incluyen, pero sin limitación tumor cerebral, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso, carcinoma de vejiga, cáncer gástrico, cáncer ovárico, peritoneal
10 carcinoma, carcinoma pancreático, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de recto, cáncer de hígado, carcinoma renal, adenocarcinoma esofágico, cáncer escamoso esofágico, cáncer de próstata, cáncer de conducto reproductor femenino, cáncer in situ, linfoma, neurofibromas, carcinoma de tiroides, osteocarcinoma, cáncer de piel, cáncer cerebral, cáncer de colon, cáncer testicular, tumor del estroma gastrointestinal, neoplasias de próstata, tumor de mastocitos, mieloma múltiple, melanoma, glioma o
15 sarcoma.

Más aún, además del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros, el procedimiento también puede comprender administrar al sujeto uno o más agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales. En otras palabras, en el procedimiento el compuesto de acuerdo con la invención se puede usar en combinación con uno o más agentes antitumorales y/o
20 inmunosupresores adicionales.

En una realización preferida, los agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales se seleccionan de uno o más de: metotrexato, capecitabina, gemcitabina, doxifluridina, pemetrexed disódico, pazopanib, imatinib, erlotinib, lapatinib, gefitinib, vandetanib, herceptin, bevacizumab, rituximab, trastuzumab, paclitaxel, vinorelbina, docetaxel, doxorubicina, hidroxycamptotecina, mitomicina, epirubicina, pirarubicina, bleomicina, letrozol, tamoxifeno, fulvestrant, triptorelin, flutamida, leuprorelina, anastrozol, ifosfamida, busulfan, ciclofosfamida, carmustina, nimustina, semustina, mecloretamina, melfalan, clorambucilo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, lobaplatino, topotecan, camptotecina, topotecano, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, actinomicina D, daunorrubicina, adriamicina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina y aminoglutetimida. En una realización preferida, el compuesto de acuerdo con la invención y el agente antitumoral y/o inmunosupresor adicional se puede administrar en cualquier orden. Por ejemplo, el agente antitumoral y/o inmunosupresor adicional se puede administrar al sujeto antes, en el mismo momento, o después de la administración del compuesto de acuerdo con la invención.

La descripción además proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros, in en la fabricación de una formulación para reducir o inhibir la actividad de CDK4 y/o CDK6 quinasa en una célula. En una realización preferida, la formulación se administra in vivo o in vitro. Por ejemplo, la formulación se administra a un sujeto (por ejemplo, mamífero, tal como bovino, equino, caprino, suidos, canino, felino, roedor y primate, por ejemplo, ser humano), para reducir o inhibir la actividad CDK4 y/o CDK6 quinasa en una célula del sujeto; o la formulación se administra a una célula in vitro (por ejemplo, una línea celular o una célula de un sujeto tal como una célula cancerosa), para reducir o inhibir la actividad de CDK4 y/o CDK6 quinasa en la célula in vitro. En una realización preferida, la célula se selecciona de células de tumor cerebral, células de cáncer de pulmón, células de carcinoma escamoso, células de carcinoma de vejiga, células de cáncer gástrico, células de cáncer de ovario, células de carcinoma peritoneal, células de carcinoma pancreático, células de cáncer de mama, células de cáncer de cabeza y cuello, células de cáncer cervical, células de cáncer de endometrio, células de cáncer de recto, células de cáncer de hígado, células de carcinoma renal, células de adenocarcinoma esofágicas, células de cáncer escamoso esofágico, células de cáncer prostático, células de cáncer del conducto reproductor femenino, células de cáncer in situ, células de linfoma, células de neurofibromas, células de carcinoma tiroideo, células de osteocarcinoma, células de cáncer de piel, células de cáncer de cerebro, células de cáncer de colon, células de cáncer de testículo, células de tumor estromal gastrointestinal, células de neoplasmas de próstata, células tumorales de mastocitos, células de mieloma múltiple, células de melanoma, células de glioma o células de sarcoma.

La descripción además proporciona un procedimiento para reducir o inhibir la actividad de CDK4 y/o CDK6 quinasa en una célula, que comprende administrar a la célula una cantidad efectiva del compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención. En una realización preferida, el procedimiento se realiza in vivo, por ejemplo, la célula es una célula en un sujeto (por ejemplo, mamífero, tal como bovino, equino, caprino, suidos, canino, felino, roedor, y primate; por ejemplo, humano); o el procedimiento se realiza in vitro, por ejemplo, la célula es una célula in vitro (por ejemplo, una línea celular o una célula de un sujeto tal como una célula de cáncer). En una realización preferida, la célula se selecciona de células de tumores cerebrales, células de cáncer de pulmón, células de carcinoma escamoso, células de carcinoma de vejiga, células de cáncer gástrico, células de cáncer de ovario, células de carcinoma peritoneal, células de carcinoma pancreático, células de cáncer de mama, células de cáncer de cabeza y cuello, células de cáncer de cuello uterino, células de cáncer de endometrio, células de cáncer rectal, células de cáncer de hígado, células de

5 carcinoma renal, células de adenocarcinoma esofágico, células de cáncer escamoso esofágico, células de cáncer de próstata, células cancerosas de conducto reproductor femenino, células de cáncer in situ, células de linfoma, células neurofibromas, células de carcinoma de tiroides, células de osteocarcinoma, células de cáncer de piel, células de cáncer cerebral, células de cáncer de colon, células de cáncer de testículo, células tumorales estromales gastrointestinales, células neoplásicas de próstata, células tumorales de mastocitos, células de mieloma múltiple, células de melanoma, células de glioma o células de sarcoma.

La descripción además proporciona un kit para reducir o inhibir la actividad de CDK4 y/o CDK6 quinasa en una célula, que comprende el compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención, y opcionalmente una instrucción.

10 Efectos técnicos beneficiosos de la invención

En comparación con la técnica previa, las soluciones técnicas de la invención tienen las siguientes ventajas:

- (1) El compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención tienen excelente actividad de inhibición de CDK4/6 quinasa.
- 15 (2) El compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención exhiben buena bioestabilidad, un efecto más duradero y alta biodisponibilidad.
- (3) El compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención exhiben una buena permeabilidad a la barrera hematoencefálica, lo que hace que los inhibidores de CDK sean posibles para el tratamiento del cáncer cerebral.
- 20 (4) El compuesto de Fórmula (I') o Fórmula (I), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con la invención exhiben baja toxicidad, buena resistencia a los medicamentos, y alta seguridad.

Modos específicos para llevar a cabo la invención

25 La invención también se describe, pero no está restringida por las siguientes realizaciones.

Experimentos

Los experimentos ejemplificados se proporcionan para una parte de los compuestos de acuerdo con la invención, para mostrar la actividad ventajosa y el efecto técnico beneficioso de los compuestos de acuerdo con la invención. Sin embargo, se debe entender que los siguientes experimentos se proporcionan simplemente con el fin de ilustrar, en lugar de restringir el alcance de la invención. Una persona experta en la técnica, sobre la base de las enseñanzas de la descripción, puede realizar diversas modificaciones o mejoras a las soluciones técnicas de la invención sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

30

Ejemplo experimental 1: Ensayo en una actividad inhibidora de enzima in vitro de los compuestos de acuerdo con la invención

35 Compuestos de prueba: los compuestos 1, 13 y 14 de la invención, cuyos nombres químicos, estructuras y procedimientos de preparación se pueden hallar en sus ejemplos de preparación.

Agentes de control: LY2835219, cuyas estructuras se pueden hallar en los antecedentes de la técnica, preparada por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación).

Los significados representados por las abreviaturas en los siguientes experimentos se describen a continuación.

Símbolo	Nombre	Símbolo	Nombre
DMSO	dimetil sulfóxido	ATP	adenosina trifosfato
DTT	ditiotreitól	EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
CDK	quinasa dependiente de ciclina	HEPES	Ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etansulfónico
FAM	carboxifluoresceína	Triton X-100	polietileno glicol octilfenol éter

Brij-35	polietileno glicol dodecil éter	CTD	Dominio carboxilo-terminal
---------	---------------------------------	-----	----------------------------

Procedimiento experimental: Medición de actividad para inhibir CDK4/6 quinasa por el procedimiento de cambio de movilidad del calibre.

1. Preparación de tampón 1-vez para quinasa

5 1) Preparación de tampón 1-vez para CDK4 quinasa

800 µl de solución patrón que contiene HEPES 1000 mM (pH 7,5), y 40 µl de solución patrón que contiene Triton X-100 10%, se añadieron a 39160 µl de agua ultra pura, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

2) Preparación de tampón 1-vez para CDK6 quinasa

10 50 ml solución patrón que contiene HEPES 1000 mM (pH 7,5), y 50 µl solución patrón que contiene 30% Brij-35, se añadieron a 949.95 ml agua ultra pura, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

2. Preparación de solución de detención

15 25 ml solución patrón que contiene reactivo de recubrimiento #3 4% (provisto de chip de 12-sipper usado en el dispositivo calibre), 50 ml de solución patrón que contiene HEPES 1000 mM (pH 7,5), 50 ml de solución patrón que contiene EDTA 0,5 M, y 0,25 ml de solución patrón que contiene Brij-35 30%, se añadieron a 374,75 ml de agua ultra pura, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

3. Preparación de solución de quinasa 2,5 veces

1) Preparación de solución de CDK4/D3 2,5 veces

7 µl de solución de enzima CDK4/D3, y 9 µl de solución patrón que contiene DTT 1 M se añadieron a 1784 µl de tampón CDK4 quinasa 1-vez, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

20 2) Preparación de solución de CDK6/D3 2,5 veces

18 µl de solución de enzima CDK6/D3, y 14 µl de solución patrón que contiene DTT 1 M se añadieron a 2768 µl de tampón CDK6 quinasa 1 vez, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

4. Preparación de solución de polipéptido 2,5 veces

1) Preparación de solución de polipéptido CDK4/D3 2,5 veces

25 10 µl de solución patrón que contiene ATP 100 mM, 45 µl de solución patrón que contiene MgCl₂ 1 M, y 45 µl de polipéptido 8 marcado con FAM, se añadieron a 1700 µl de tampón CDK4 quinasa 1-vez, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

2) Preparación de solución de polipéptido CDK6/D3 2,5 veces

30 23 µl de solución patrón que contiene ATP 100 mM, 75 µl de solución patrón que contiene MgCl₂ 1 M, y 75 µl de polipéptido 8 marcado con FAM, se añadieron a 2827 µl de tampón CDK6 quinasa 1 vez, y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente.

5. Preparación de solución de compuesto de prueba 5 veces:

35 La solución de DMSO que contiene el compuesto de prueba 10 mM se diluyó con DMSO a una solución que contiene un compuesto de prueba 50 µM (que se usó como una solución patrón). Dicha solución patrón se sometió a dilución por etapas 4 veces con DMSO para preparar soluciones que contienen 12,5 µM, 3,125 µM, 0,78 µM, 0,195 µM, 0,0488 µM, 12,2 nM, 3 nM, 0,76 nM y 0,19 nM de compuesto de prueba, respectivamente, y cada uno de ellos se diluyó 10 veces con tampón quinasa 1 vez para preparar una solución de compuesto 5 veces.

6. Reacción enzimática CDK4/6

40 1) 5 µl de solución de compuesto de prueba 5 veces y 10 µl de solución de quinasa 2,5 veces se añadieron a los correspondientes pocillos en una placa de 384 pocillos, y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min.

2) A los pocillos correspondientes, se añadieron 10 µl de solución de polipéptido 2,5 veces para iniciar la reacción enzimática, y se realizó la incubación a 28 °C durante 5 h.

7. Ensayo enzimático

A los pocillos correspondientes, se añadieron 25 µl de solución de detención para detener la reacción.

8. Los datos fueron leídos por el dispositivo Calibre, la tasa de inhibición se calculó mediante la siguiente fórmula, y el ajuste de la curva el programa se llevó a cabo por software GraphPad5.0 para obtener el valor IC₅₀.

- 5 Tasa de inhibición = (valor de muestra- valor máximo)/(valor máximo - valor mínimo) x 100, en la que, valor máximo: control positivo sin adición de compuesto de prueba; valor mínimo: control negativo sin adición de enzima.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 1:

Tabla 1: Actividad inhibidora de enzimas in vitro de los compuestos de acuerdo con la invención

Compuesto de prueba	Actividad inhibidora de enzima CDK IC ₅₀ (nM)	
	CDK6/D3	CDK4/D3
Compuesto 1	16	2,7
Compuesto 13	31,3	3,0
Compuesto 14	23,1	2,6
LY2835219	12,3	1,8

- 10 Conclusión experimental: se muestra en la Tabla 1 que los compuestos de acuerdo con la invención tienen una actividad inhibidora sobre la CDK4 y CDK6 quinasa, que es comparable con la del agente control, es decir, muestra una actividad inhibidora suficiente.

Ejemplo experimental 2: Ensayo in vitro sobre actividad inhibidora celular de los compuestos de acuerdo con la invención

- 15 Compuestos de prueba: los compuestos de la invención, cuyos nombres químicos, fórmulas y procedimientos de preparación se pueden hallar en sus ejemplos de preparación.

Agente de control: LY2835219, cuya fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación).

Los significados representados por las abreviaturas en los experimentos a continuación se describen de la siguiente manera.

Símbolo	Nombre	Símbolo	Nombre
MDA-MB-435S	célula de melanoma humano	MCF-7	Célula de cáncer de mama humano
U87MG	célula de glioblastoma humano	L-15	Medio de cultivo Leibovitz
MEM	Medio esencial mínimo	DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
DMSO	dimetil sulfóxido	PBS	Solución salina tamponada con fosfato
BrdU	bromodeoxiuridina	TMB	tetrametil bencidina
HRP	Peroxidasa de rábano	IgG	Inmunoglobulina G
FBS	Suero bovino fetal	OD	Densidad óptica

- 20 Procedimiento experimental: el ensayo de proliferación celular se llevó a cabo mediante el procedimiento BrdU (kit de ensayo de proliferación de células BrdU, Cell Signaling Technology Company).

1. Preparación de reactivos y compuestos

Preparación de licor de lavado 1 vez

Se diluyó 20 veces el licor de lavado como solución patrón con agua ultrapura para preparar licor de 1 vez.

Preparación de solución de anticuerpo de detección 1 vez:

- 5 La solución patrón de anticuerpo de detección BrdU 100 veces se diluyó con un diluyente de anticuerpo de detección para preparar la solución de anticuerpo de detección 1 vez.

Preparación de solución 1 vez de anticuerpo secundario marcado con HRP

La solución de patrón de 100 veces del anticuerpo IgG anti-ratón marcado con HRP se diluyó con diluyente de anticuerpo marcado con HRP para preparar una solución 1 vez de anticuerpo secundario marcado con HRP.

10 Solución BrdU 10 veces:

La solución de patrón de 1000 veces BrdU se diluyó con el medio correspondiente para preparar una solución BrdU 10 veces.

Preparación de compuesto de prueba

- 15 Preparación de compuesto de prueba solución patrón: la solución patrón 10 mM de un compuesto de prueba se preparó mediante el uso de DMSO 100%.

Preparación de soluciones de dilución de gradiente del compuesto de prueba: la solución patrón que contiene compuesto de prueba 10 mM se sometió a una dilución en etapas 4 veces con DMSO para preparar soluciones que contienen 2,5 mM, 625 μ M, 156 μ M, 39 μ M, 9,8 μ M, y 2,5 μ M de compuesto de prueba, respectivamente. Se añadieron 2 μ l de compuesto diluido con DMSO a 198 μ l de medio de cultivo que contiene FBS 10% para preparar el compuesto de prueba 10 veces, en el que la concentración máxima del compuesto de prueba fue 100 μ M, la concentración de DMSO fue 1%, y hubo 7 gradientes de concentración.

Preparación de medio de cultivo

Medio MDA-MB-435S: L-15 + 10% FBS + 0,01 mg/ml de insulina

Medio MCF-7: DMEM + 10% FBS + 0,01 mg/ml de insulina

- 25 Medio U87MG: MEM + 10% FBS

2. Etapas experimentales

- 30 (1) Las células cultivadas al 80% de confluencia (en fase de crecimiento exponencial) se digirieron con pancreatina y se centrifugaron para recoger las células. Las células MDA-MB-435S y U87MG se resuspendieron en medio de cultivo libre de FBS, se contaron y se sembraron en una placa de 96 pocillos; las células MDA-MB-435S se sembraron a razón de 3000 células/pocillo/81 μ l; las células U87MG se sembraron a razón de 4000 células/pocillo/81 μ l. Las células MCF-7 se resuspendieron en un medio de cultivo que contiene FBS 1%, y se contaron y se sembraron en una placa de 96 pocillos, a 4000 células/pocillo/82 μ l. Las placas se colocaron en una incubadora de células a 37 °C.

- 35 (2) Después de 24 h de cultivo, se añadió FBS (9 μ l) a cada uno de los pocillos de células MDA-MB-435S y U87MG, y se añadieron 8 μ l de FBS a cada pocillo de células MCF-7, para alcanzar una concentración de FBS final de 10%.

(3) A cada pocillo, se añadió una concentración diferente de compuesto de prueba 10 veces (10 μ l), para obtener el compuesto de prueba a una concentración final de 10 μ M, 2,5 μ M, 625 nM, 156 nM, 39 nM, 9,8 nM, y 2,5 nM, respectivamente, con 3 pocillos repetidos/grupo y las células se cultivaron durante 72 h a 37 °C.

Control de disolvente: DMSO 0,1%

- 40 Control de blanco: medio de cultivo sin adición de células

Control de células normales: células normales sin tratamiento

(4) A cada pocillo, se añadió una solución de BrdU 10 veces (10 μ l), y el medio de cultivo se descartó después de la incubación durante 4 h en el incubador.

- 45 (5) A cada pocillo, se añadió solución de fijación/desnaturalización (10 μ l), la solución se descartó después de la incubación durante 30 min a temperatura ambiente.

(6) A cada pocillo, se añadió solución de anticuerpos de detección 1 vez (100 µl), la solución se descartó después de la incubación durante 1 h, y el pocillo se lavó con licor de lavado 1 vez a 200 µl/pocillo durante tres veces.

(7) A cada pocillo, se añadió solución de anticuerpo secundario marcado con HRP (100 µl) 1 vez, la solución se descartó después de la incubación durante 30 min a temperatura ambiente, y el pocillo se lavó con licor de lavado 1 vez a 200 µl/pocillo durante tres veces.

(8) A cada pocillo, se añadió solución sustrato TMB (100 µl), y la incubación se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 30 min.

(9) A cada pocillo, se añadió solución de detención (100 µl) y se midió el valor de OD a 450 nm por instrumento de ELISA

10 3. Procesamiento de datos

1) Tasa de supervivencia (%) = $(OD_{\text{compuesto de prueba}} - OD_{\text{control de blanco}}) / (OD_{\text{control de células normales}} - OD_{\text{control de blanco}}) \times 100\%$

Control OD_{blanco}: valor de control de blanco; OD_{control de células normales}: valor de control de células normales;

2) Los datos se procesaron mediante un software GraphPad Prism 5 para obtener una curva y valores de IC₅₀.

15 Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2: Actividad inhibidora de células in vitro de los compuestos de acuerdo con la invención

Compuesto de prueba	Actividad inhibidora de células in vitro (IC ₅₀ , nM)		
	MDA-MB-435S	MCF-7	U87MG
Compuesto 6-1	70	83	47
LY2835219	200	176	40

Conclusión experimental: como se muestra en la Tabla 2, los compuestos de acuerdo con la invención tienen alta actividad inhibidora de células in vitro, y son superiores a LY2835219 obviamente.

20 Ejemplo experimental 3: Ensayo en farmacocinética de los compuestos de acuerdo con la invención en ratones desnudos

Compuestos de prueba: una pare de los compuestos de la invención, preparados por los inventores; sus nombres químicos, y procedimientos de preparación se pueden hallar en sus ejemplos de preparación.

25 Agente de control: LY2835219, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación), su fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica.

Animal de prueba: ratón desnudo hembra (BALB/c); agente de control: 3 ratones/vía de administración en cada punto de tiempo, peso: 22-25 g/ratón; Compuesto 1: 3 ratones/vía de administración en cada punto de tiempo, peso: 22-25 g/ratón; Compuesto 6-1: 6 ratones/vía de administración en cada punto de tiempo, peso: 18-26 g/ratón.

Preparación de soluciones del compuesto de prueba

30 Preparación de disolvente de blanco 1

MC (metilcelulosa) (500 mg) y SDS (dodecil sulfato de sodio) (100 mg) se pesaron y mezclaron homogéneamente, y se añadió agua (100 ml); la mezcla resultante se molió y mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener solución de MC 0,5%+SDS 0,1%.

Preparación de disolvente de blanco 2

35 Preparación de tampón pH 5,0: Se pesó dihidrógeno fosfato de sodio dihidrato (1,56 g) y se añadió a agua purificada para preparar 50 ml de solución, que se ajustó a un pH de 5,0 usando solución de hidróxido de sodio.

Preparación de disolvente de blanco 3

Tween 80 0,1% + HPC 2%: Se pesó HPC (hidroxipropil celulosa) (20 g) y se añadió lentamente al agua purificada (1000 ml) bajo agitación; posteriormente se añadió Tween 80 (1 ml), y la mezcla resultante se agitó hasta que se obtuvo una solución transparente.

Agente de control:

- 5 (1) El agente de control (12,18 mg) se pesó, y se añadió solución salina normal (9,529 ml); la mezcla resultante se disolvió por ultrasonido y se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para preparar una solución 1 transparente e incolora 1 mg/ml, que se usó como líquido 1 del agente de control para la administración IV al ratón desnudo ;
- 10 (2) El agente de control (13,12 mg) se pesó, y se añadió disolvente de blanco 1 (10,265 ml); la mezcla resultante se molió y se suspendió homogéneamente para preparar una solución 2 homogénea 1 mg/ml, que se usó como líquido 2 del agente de control para la administración PO al ratón desnudo.

Compuesto 1:

- 15 (1) El Compuesto 1 (5,79 mg) se pesó, y se añadió DMF (*N,N*-dimetilformamida) (0,556 ml); la mezcla resultante se disolvió por ultrasonido; posteriormente se añadió solución salina normal (4,999 ml) y la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener una solución transparente, que se usó como líquido 1 del Compuesto 1 para la administración IV al ratón desnudo;
- (2) El Compuesto 1 (12,20 mg) se pesó, y se añadió disolvente de blanco 1 (11,706 ml); la mezcla resultante se molió y se suspendió homogéneamente para preparar una solución homogénea 1 mg/ml, que se usó como líquido 2 del compuesto 1 para la administración PO al ratón desnudo.
- 20 (3) Compuesto 1 (84,63 mg) se pesó, y se añadió disolvente de blanco 1 (8,120 ml); la mezcla resultante se molió y se suspendió homogéneamente para preparar una solución homogénea 10 mg/ml, que se usó como líquido 3 del compuesto 1 para la administración PO al ratón desnudo.

Compuesto 6-1:

- 25 (1) El Compuesto 6-1 (2,01 mg) se pesó, y se añadió disolvente de blanco 2 (3,928 ml); la mezcla resultante se disolvió por ultrasonido y se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para preparar a 0,5 mg/ml solución homogénea, que se usó como líquido 1 del compuesto 6-1 para la administración IV al ratón desnudo;
- (2) El Compuesto 6-1 (5,11 mg) se pesó y se añadió disolvente de blanco 3 (4,951 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente a 1000 r/min en un triturador de tejido; el fluido de molienda se transfirió a un tubo de centrifuga y se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para preparar una solución homogénea 1 mg/ml, que se usó como líquido 2 del compuesto 6-1 para la administración PO al ratón desnudo a 10 mg/kg;
- 30 (3) El Compuesto 6-1 (51,10 mg) se pesó y se añadió disolvente de blanco 3 (1,496 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente a 1000 r/min en un triturador de tejido; el fluido de molienda se transfirió a un tubo de centrifuga, y se añadió dicho disolvente (1 ml) para lavar el triturador de tejido; el disolvente se transfirió al tubo de centrifuga después del lavado; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para preparar una solución homogénea 20 mg/ml, que se usó como líquido 3 del compuesto 6-1 para la administración PO al ratón desnudo a 200 mg/kg.
- 35

Procedimiento experimental

Administración:

Los compuestos de prueba se administran mediante los procedimientos listados en la siguiente tabla:

Compuesto de prueba	Casos de animal experimental	Vía de administración	Dosis de administración (mg/kg)	Concentración de administración (mg/ml)	Volumen de administración (ml/kg)
LY2835219	33	IV	5	1	5
	30	PO	10	1	10
Compuesto 1	33	IV	5	1	5
	30	PO	10	1	10

	33	PO	100	10	10
Compuesto 6-1	6	IV	2,5	0,5	5
	6	PO	10	1	10
	6	PO	200	20	10

Recolección de sangre:

Punto de tiempo de recolección:

5 Agente de control/Compuesto 1, grupo de administración IV: antes de administración, 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, y 30 h después de administración; grupo de administración PO (10 mg/kg): antes de administración, 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, y 30 h después de administración.

Compuesto 1, grupo de administración PO (100 mg/kg): 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, y 48 h después de administración.

10 Compuesto 6-1, grupo de administración IV (2,5 mg/kg) y grupo de administración PO (10 mg/kg): 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 h después de administración; Compuesto 6-1, grupo de administración PO (100 mg/kg): 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, 48 h después de administración.

15 Agente de control/Compuesto 1:: se recolectaron 300 µl de sangre total del canto intraocular en cada punto de tiempo, y se centrifugó a 8000 r/min durante 6 minutos en una centrífuga de alta velocidad para separar el plasma; el plasma se almacenó en un refrigerador a -80 °C. Compuesto 6-1: se recolectaron 60 µl de sangre entera del canto intraocular en cada punto de tiempo, y se colocaron en un tubo de anticoagulación que contiene agente anticoagulante K₂EDTA; la muestra de sangre se centrifugó a 8000 r/min durante 6 minutos para obtener una muestra de plasma.

Análisis de muestra de plasma

20 Las muestras de plasma del agente de control y el compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: a 50 µl de plasma, se añadieron 200 µl de patrón interno (solución de acetonitrilo que contiene 500 ng/ml de warfarina); la mezcla resultante se agitó en vórtex durante 3 min a 1500 r/min, y se centrifugó durante 5 min a 13000 r/min; a 100 µl de sobrenadante, se añadieron 400 µl de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente con vórtex y se analizó mediante LC-MS/MS.

25 La muestra de plasma del compuesto 6-1 se analizó por precipitación de proteína: a una cantidad adecuada de plasma, se añadió un volumen dado de solución de estándar interno; la mezcla resultante se agitó en vórtex y se centrifugó; el sobrenadante se diluyó mediante la adición de un volumen dado de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo vórtex y se analizó mediante LC-MS/MS.

Tabla 3-1: Resultado de evaluación PK (IV) en ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	AUC _{last} (h*ng/ml)	CL (L/h/kg)	V _{ss} (L/kg)
LY2835219	5	1587	3,01	5,79
Compuesto 1	5	2084	2,29	4,61
Compuesto 6-1	2,5	985	2,41	12,5

30 Tabla 3-2: Resultado de la evaluación PK (PO) en ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max}	C _{max}	AUC _{last} (h*ng/ml)	F (%)
LY2835219	10	0,5	368	1307	41,1

Compuesto 1	10	2	675	2763	65,5
	100	2	3078	33902	77,9
Compuesto 6-1	10	2	300	1407	39,3
	200	2	5373	90916	115

AUC_{last} representa la curva del área bajo concentración-tiempo durante la administración 0→t.

CL representa la depuración.

V_{ss} representa volumen aparente de distribución en estado estacionario.

T_{max} representa el tiempo a la concentración sanguínea máxima.

C_{max} representa la concentración sanguínea máxima.

F% representa biodisponibilidad absoluta.

Como se observa a partir de los resultados experimentales mostrados en las Tablas 3-1 y 3-2, en comparación con el agente de control en la misma dosis, los compuestos de acuerdo con la invención tienen buenas propiedades farmacocinéticas, y son superiores al agente de control particularmente con respecto a la dosis de exposición y biodisponibilidad; y el grupo de dosis alta tenía una biodisponibilidad cercana a 100%.

Ejemplo experimental 4: Ensayo en farmacocinética lineal de los compuestos de acuerdo con la invención en rata

Compuestos de prueba: el compuesto 1 de la invención, preparado por los inventores; el nombre químico y el procedimiento de preparación del mismo se pueden encontrar en el ejemplo de preparación.

Agente de control: LY2835219, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación); su fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica.

Animal de prueba: rata SD macho, 3 ratas/dosis de administración/compuesto de prueba, peso: 200-240 g/rata.

Preparación de soluciones del compuesto de prueba

Preparación del tampón de disolvente de pH 4,0: ácido cítrico (21 g) se disolvió en agua y se añadió agua a un volumen final de 1000 ml para obtener la solución A, que se almacenó para su uso posterior; el hidrógeno fosfato disódico (71,63 g) se disolvió en agua y se añadió agua a un volumen final de 1000 ml para obtener la solución B, que se almacenó para su uso posterior. Dicha solución A (614,5 ml) se mezcló homogéneamente con dicha solución B (385,5 ml) bajo agitación para obtener un tampón del disolvente pH 4,0.

Agente de control:

(1) Tampón del disolvente pH 4,0 se usó como disolvente pH 4,0 para preparar solución 1 del agente de control LY2835219 a una concentración de 1,5 mg/ml;

(2) Tampón del disolvente pH 4,0 se usó como disolvente pH 4,0 para preparar solución 2 del agente de control LY2835219 a una concentración de 4,5 mg/ml;

(3) Tampón del disolvente pH 4,0 se usó como disolvente pH 4,0 para preparar la solución 3 del agente de control LY2835219 a una concentración de 13,5 mg/ml;

Dichas soluciones 1-3 se usaron como líquidos para la administración PO del agente de control LY2835219 a 15 mg/kg, 45 mg/kg y 135 mg/kg.

Para el compuesto 1:

(1) Tampón del disolvente pH 4,0 se usó como disolvente pH 4,0 para preparar una solución 4 del compuesto 1 a una concentración de 13,5 mg/ml;

(2) dicha solución homogénea 4 (4 ml) se diluyó con tampón del disolvente pH 4,0 para preparar la solución 5 del compuesto 1 a una concentración de 4,5 mg/ml;

(3) dicha solución homogénea 4 (1,4 ml) se diluyó con tampón del disolvente pH 4,0 para preparar la solución 6 del compuesto 1 a una concentración de 1,5 mg/ml;

Dichas soluciones 4-6 se usaron como líquidos para la administración PO del compuesto 1 a 15 mg/kg, 45 mg/kg y 135 mg/kg.

5 Procedimiento experimental

Administración:

Los compuestos de prueba se administran por los procedimientos listados en la siguiente tabla:

Compuesto de prueba	Casos de animal experimental	Vía de administración	Dosis de administración (mg/kg)	Concentración de administración (mg/ml)	Volumen de administración (ml/kg)
LY2835219	3	PO	15	1,5	10
	3	PO	45	4,5	10
	3	PO	135	13,5	10
Compuesto 1	3	PO	15	1,5	10
	3	PO	45	4,5	10
	3	PO	135	13,5	10

Recolección de sangre

10 Agente de control:

Punto de tiempo de recolección: para el grupo PO (15 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, y 48 h después de administración. Para el grupo PO (45 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, 48, 56 y 72 h después de administración. Para el grupo PO (135 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, 48, 56, 72, 96 y 102 h después de administración.

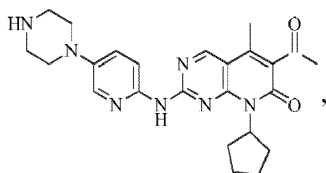
15 Para el compuesto 1:

Punto de tiempo de recolección: para el grupo PO (15 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, y 48 h después de administración. Para el grupo PO (45 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, y 48 h después de administración. Para el grupo PO (135 mg/kg), 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, 48, 56, 72 y 96 h después de administración.

20 Se recolectaron 100 µl de sangre entera de la vena caudal en cada punto de tiempo, se añadió a un tubo de anticoagulación que contenía K₂EDTA y se centrifugó a 8000 r/min en una centrífuga de alta velocidad durante 6 minutos para separar el plasma; el plasma se almacenó en un refrigerador a -80 °C.

Análisis de la muestra de plasma

25 Las muestras de plasma del agente de control y el compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: a 30 µl de plasma, se añadieron 200 µl de estándar interno (solución de acetonitrilo que contiene 50 ng/ml de PD0332991, cuya fórmula es



30 preparada por referencia al procedimiento en la Patente CN101001857A); la mezcla resultante se agitó en vórtex durante 10 min a 1500 r/min, y se centrifugó durante 20 min a 4000 r/min; a 100 µl de sobrenadante, se añadieron 100 µl de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex y se analizó por LC-MS/MS.

Tabla 4-1: Resultado de la evaluación PK del agente de control (PO) en rata

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h*ng/ml)
LY2835219	15	4	504	9686
	45	4	860	32631
	135	24	1370	97593

Tabla 4-2: Resultado de la evaluación PK del Compuesto 1 (PO) en rata

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h*ng/ml)
Compuesto 1	15	4	941	12647
	45	4	1583	37655
	135	24	2410	136005
T_{max} representa tiempo de concentración sanguínea máxima. C_{max} representa concentración sanguínea máxima. AUC_{last} representa área bajo la curva de concentración-tiempo durante la administración 0→t.				

- 5 Como se observa a partir de los resultados experimentales mostrados en las Tablas 4-1 y 4-2, en comparación con el agente de control a la misma dosis, los compuestos de acuerdo con la invención son superiores al agente de control con respecto a C_{max} y AUC_{last}; y con el aumento de la dosis, AUC_{last} aumenta de una manera lineal; el compuesto 1 de la invención tiene buenas propiedades farmacocinéticas lineales.

10 **Ejemplo experimental 5: Evaluación de farmacodinámica y seguridad farmacéutica de los compuestos de acuerdo con la invención en modelo de tumor subcutáneo de ratón desnudo BALB/c con célula de cáncer de colon humano Colo-205**

Compuestos de prueba: el compuesto 1 de la invención, cuyos el nombre químico y el procedimiento de preparación se pueden encontrar en el ejemplo de preparación.

- 15 Agente de control: LY2835219, cuya fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para el procedimiento de preparación).

Los significados representados por las abreviaturas en los experimentos a continuación se describen de la siguiente manera.

Símbolo	Nombre	Símbolo	Nombre
COLO205	célula de cáncer de colon humano	PBS	solución salina tamponada con fosfato
RPMI-1640	Medio 1640	QD	una vez por día
RTV	Volumen de tumor relativo	TGI	Inhibición del crecimiento tumoral
BALB/c	Ratón albino endogámico	MC	metilcelulosa
SDS	dodecil sulfato de sodio	CO ₂	Dióxido de carbono

Animal de prueba: ratón desnudo hembra (BALB/c), 8 ratones/grupo de dosis/compuesto de prueba, peso: 19-27 g/ratón.

Preparación de las soluciones del compuesto de prueba

5 Preparación de un disolvente de blanco que contiene MC 0,5% y SDS 0,1%: MC (2 g) se pesó, y se disolvió mediante la adición de agua ultra pura (350 ml); posteriormente se añadió SDS (0,4 g), y el volumen se ajustó a 400 ml. Después de mezclar bien, la mezcla resultante se filtró mediante un filtro de 0,22 µm para eliminar las bacterias, y se sub-envasó y se almacenó a 4 °C, para obtener el disolvente de blanco.

10 Agente de control (32 mg) se pesó, y se añadió disolvente (2,5 ml); la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener una solución homogénea 1 que contiene agente de control a una concentración de 10 mg/ml; disolvente (1,5 ml) se añadió a la solución homogénea 1 (0,5 ml) para obtener una solución homogénea 2 que contiene agente de control a una concentración de 2,5 mg/ml.

15 El Compuesto 1 (6,3 mg) se pesó, y se añadió disolvente (2,4 ml); la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener una solución homogénea 1 que contiene compuesto 1 a una concentración de 2,5 mg/ml; el compuesto 1 (12,6 mg) se pesó, y se añadió disolvente (2,4 ml); la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener una solución homogénea 2 que contiene compuesto 1 a una concentración de 5 mg/ml; el compuesto 1 (25,2 mg) se pesó, y se añadió disolvente (2,4 ml); la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex para obtener una solución homogénea 3 que contiene compuesto 1 a una concentración de 10 mg/ml. Dicha solución homogéneas de agente de control y compuesto 1 se prepararon inmediatamente antes de la administración cada día, y se almacenaron en la oscuridad.

20 Procedimiento experimental

Cultivo celular:

25 Las células cancerosas COLO205 se cultivaron en medio RPMI-1640 que contiene suero fetal bovino inactivado 10%, penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml y glutamina 2 mM, en un incubador de CO₂ a 37 °C, 5%. La concentración inicial de cultivo celular fue de 5×10^5 células/ml, y las células se transfirieron a otros frascos cada 3 o 4 días y se pasaron. Las células tumorales en fase de crecimiento exponencial se usaron para la siembra de tumores in vivo.

Siembra y agrupación celular:

30 Las células tumorales COLO205 suspendidas en PBS se sembraron por vía subcutánea en el tórax lateral derecho del animal experimental a 1×10^7 células/0,1 ml, y el animal se sacrificó cuando el tumor creció a un volumen de 800 mm³ a 1000 mm³; en condiciones asépticas, los tumores se desprendieron y se eliminaron los tejidos necróticos; se seleccionaron los tejidos tumorales bien desarrollados; las células tumorales se aislaron y se sometieron a cultivo primario y proliferación, y posteriormente se sembraron por vía subcutánea en animales. Las células tumorales se pasaron durante dos generaciones en ratones por este procedimiento, y las células del cultivo primario se sembraron por vía subcutánea en el tórax lateral derecho del animal experimentales, a 5×10^6 células/0,1 ml por animal. Cuando el tumor creció a un volumen de aproximadamente 100 mm³, los animales se agruparon y se trataron. Para la administración oral, el volumen de administración es de 0,1 ml/10 g de peso corporal del animal.

Administración:

Los compuestos de prueba se administran por los procedimientos listados en la siguiente tabla:

Compuestos de prueba	Casos de animales experimentales	vía	dosis (mg/kg)	Concentración de administración (mg/ml)	Volumen de administración (ml/kg)	Período de administración
Control de disolvente	8	PO	0	0	10	QD, 22 días
LY2835219	8	PO	25	2,5	10	QD, 22 días
LY2835219	8	PO	100	10	10	QD, 22 días
Compuesto 1	8	PO	25	2,5	10	QD, 22 días

Compuesto 1	8	PO	100	10	10	QD, 22 días
-------------	---	----	-----	----	----	-------------

Recolección de sangre: la sangre se recolectó del canto intraocular. Después de la última administración (día 22) del agente de control y el compuesto 1, se recolectó sangre/tumor en los mismos puntos de tiempo, en los que 8 ratones desnudos para cada grupo de dosis se dividieron en grupos A y B

- 5 Grupo A (Núm. 1-4): se recolectó sangre a 15 min, 1 h y 2h, y el ratón se sacrificó después de la recolección de sangre a 2 h;

Grupo B (Núm. 5-8): se recolectó sangre a 4 h, 8 h y 24 h, y el ratón se sacrificó después de la recolección de sangre a 24 h;

- 10 Se recolectaron 100 µl de sangre entera en cada punto de tiempo y se añadieron a un tubo de anticoagulación que contiene K₂EDTA, y se centrifugó a 4500 r/min a 4°C en una centrífuga de alta velocidad durante 5 minutos para separar el plasma; el plasma se almacenó en un refrigerador a -80 °C.

Análisis de muestra de plasma

- 15 Las muestras de plasma del agente de control y compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: a 50 µl de plasma, se añadieron 150 µl de estándar interno (solución de acetonitrilo que contiene 50 ng/ml de dexametasona); la mezcla resultante se agitó en vórtex a 1500 r/min durante 3 min, y se centrifugó a 4000 r/min durante 20 min; a 100 µl de sobrenadante, se añadieron 100 µl de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex y se analizó por LC-MS/MS.

Tabla 5-1: Resultado de la evaluación PK del agente de control en ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max}	C _{max}	AUC _{last} (h*ng/ml)
LY2835219	25	4,00	733	9123
	100	8,00	1077	22980

- 20 Tabla 5-2: Resultado de la evaluación PK del Compuesto 1 in ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max}	C _{max}	AUC _{last} (h*ng/ml)
Compuesto 1	25	2,00	1145	12280
	100	8,00	2425	48305

AUC_{last} representa área bajo la curva de concentración-tiempo durante la administración 0→t.

T_{max} representa tiempo de concentración sanguínea máxima.

C_{max} representa concentración sanguínea máxima.

Como se observa a partir de los resultados experimentales mostrados en las Tablas 5-1 y 5-2, en comparación con el agente de control, el compuesto 1 de acuerdo con la invención tiene buenas propiedades farmacocinéticas; el compuesto 1 es superior al agente de control a la misma dosis con respecto a la dosis de exposición AUC_{last} y C_{max}.

- 25 **Ejemplo experimental 6: Ensayo in vivo para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica de los compuestos de acuerdo con la invención en rata**

Compuestos de prueba: compuesto 1 de la invención, preparado por los inventores; el nombre químico, y el procedimiento de preparación del mismo se pueden encontrar en el ejemplo de preparación.

- 30 Agente de control: LY2835219, cuya fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación).

Animal de prueba: rata SD macho, 3 ratas/compuesto de prueba/punto de tiempo, peso: 250-300 g/rata

Preparación de solución de compuesto de prueba

Preparación de disolvente (solución de MC 0,5% (metilcelulosa) + SDS 0,1% (dodecil sulfato de sodio)): MC (500 mg) y SDS (100 mg) se mezclaron homogéneamente, y se añadió agua (100 ml); la mezcla resultante se molió y

El agente de control (108,22 mg) se pesó, y se añadió disolvente (36,07 ml); la mezcla resultante se molió y se suspendió homogéneamente para obtener una solución homogénea 1. La solución se usó como líquido para la administración PO del agente de control LY2835219 a rata.

El Compuesto 1 (111,52 mg) se pesó, y se añadió disolvente (35,39 ml); la mezcla resultante se molió y se suspendió homogéneamente para obtener una solución homogénea 2. La solución se usó como líquido para la administración PO del compuesto 1 a la rata.

Procedimiento experimental

Administración:

Los compuestos de prueba se administran por los procedimientos listados en la siguiente tabla:

Compuesto de prueba	Casos de animales experimentales	Vía de administración	Dosis de administración (mg/kg)	Concentración de administración (mg/ml)	Volumen de administración (ml/kg)
LY2835219	12	administración intragástrica (PO)	30	3	10
Compuesto 1	12	administración intragástrica (PO)	30	3	10

Procedimiento de recolección:

Después de la administración de PO por separado del agente de control y el compuesto 1, se recolectó sangre mediante punción cardíaca a las 2, 4, 24 y 48 h; se recolectaron aproximadamente 8 ml de sangre entera, y se colocaron en un tubo de centrifuga que contiene agente anticoagulante K₂EDTA; el líquido cefalorraquídeo y el tejido cerebral también se recolectaron al mismo tiempo, 3 ratas en cada punto de tiempo. La sangre entera recolectada se centrifugó a 3000 r/min a 4 °C una centrifuga de alta velocidad durante 10 minutos para separar el plasma; y el plasma se almacenó en un refrigerador a -80 °C. Después de la recolección de la muestra, se determinaron las concentraciones de agente de control y compuesto 1 en plasma, tejido cerebral y líquido cefalorraquídeo, respectivamente.

Análisis de muestra de plasma

Las muestras de plasma de agente de control y el compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: las muestras de prueba se tomaron del refrigerador (-80 °C), se descongelaron a temperatura ambiente, y posteriormente se agitaron en vórtex durante 3 min; a 30 µl plasma, se añadieron 200 µl de estándar interno (solución de acetonitrilo que contiene 25 ng/ml de PD0332991); la mezcla resultante se agitó en vórtex durante 10 min a 1500 r/min, y se centrifugó a 4000 r/min durante 20 min; a 100 µl sobrenadante, se añadieron 100 µl de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex y se analizó por LC-MS/MS.

Análisis de muestras de tejido cerebral y líquido cefalorraquídeo

Las muestras de tejido cerebral y líquido cefalorraquídeo para el agente de control y compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: las muestras de prueba se tomaron del refrigerador (-80 °C), se descongelaron a temperatura ambiente y posteriormente se agitaron en vórtex durante 3 min; a 20 µl de muestra de tejido cerebral homogeneizado, se añadieron 200 µl de estándar interno (una solución de metanol y agua a 1: 1 que contiene 40 ng/ml de dextrometorfano y 50 ng/ml de dextrorfano); la mezcla resultante se agitó en vórtex durante 3 minutos a 1500 rpm y se centrifugó a 4 °C, 4000 g durante 5 minutos; a 100 µl de sobrenadante, se añadieron 50 µl de ácido fórmico 0,1% en agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex y se analizó mediante LC-MS/MS. La muestra de líquido cefalorraquídeo se trató de la misma manera que la muestra de tejido cerebral homogeneizado.

Tabla 6: Resultados experimentales de la evaluación sobre la permeabilidad de la barrera hematoencefálica del compuesto 1 de acuerdo con la invención en ratas

Compuesto	Nombre	Dosis de administración	Tipo de muestra	T _{max} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (ng·h/ml)
Compuesto 1		30	plasma	4	2606	49238
			tejido cerebral	4	535	12075
			líquido cefalorraquídeo	4	106	1294
LY2835219		30	plasma	4	1497	40455
			tejido cerebral	4	673	18097
			líquido cefalorraquídeo	4	11,8	451

AUC_{last} representa área bajo la curva de concentración-tiempo durante la administración 0→t.

T_{max} representa tiempo de concentración sanguínea máxima.

C_{max} representa concentración sanguínea máxima.

- 5 Como se observa a partir de los resultados experimentales mostrados en la Tabla 6, en comparación con el agente de control, los compuestos de acuerdo con la invención pueden entrar efectivamente en el tejido cerebral desde el plasma mediante el ensayo para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, y fueron superiores al agente de control LY2835219 con respecto a la dosis de exposición en el líquido cefalorraquídeo.

10 **Ejemplo 7: Evaluación de la farmacodinámica y seguridad farmacéutica de los compuestos de acuerdo con la invención en el modelo de tumor subcutáneo de ratón desnudo BALB/c con células de glioma cerebral humano U-87MG**

Compuestos de prueba: los compuestos de la invención, preparados por los inventores; los nombres químicos, y procedimientos de preparación de los mismos se pueden hallar en sus ejemplos de preparación.

Agente de control: LY2835219, cuya fórmula se puede hallar en los Antecedentes de la técnica, preparado por los inventores (por favor referirse a la Patente CN102264725A para los procedimientos de preparación).

- 15 Los significados representados por las abreviaturas en los experimentos a continuación se describen de la siguiente manera.

Símbolo	Nombre	Símbolo	Nombre
U87MG	célula de glioblastoma humano	ATCC	American Type Culture Collection
MEM	medio mínimo esencial	EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
BALB/c	ratón albino endogámico	MC	metilcelulosa
SDS	dodecil sulfato de sodio	CO ₂	dióxido de carbono
QD	una vez por día	PBS	solución salina tamponada con fosfato

Animal de prueba: ratón desnudo hembra (BALB/c), 10 ratones/grupo de dosis/compuesto de prueba, peso: 18-22 g/ratón.

Preparación de soluciones del compuesto de prueba

Preparación de disolvente que contiene MC 0,5%: una cantidad adecuada de MC se disolvió en un volumen dado de agua ultra pura; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente para obtener disolvente 1 que contiene MC 0,5%.

- 5 Preparación de disolvente que contiene MC 0,5% y SDS 0,1%: una cantidad adecuada de MC y una cantidad adecuada de SDS se disolvieron en un volumen dado de agua ultra pura; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente para obtener disolvente 2 que contiene MC 0,5% y SDS 0,1%.

- 10 El agente de control (508,87 mg) y SDS (39,37 mg) se pesaron, y diluyeron con el disolvente 1 (39,37 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente para obtener una solución homogénea 1 que contiene agente de control a una concentración de 10,1 mg/ml; se tomó la solución homogénea 1 (13,125 ml) que contiene agente de control, y se añadió el disolvente 2 (13,125 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente para obtener una solución homogénea 2 que contiene agente de control a una concentración de 5,0 mg/ml.

- 15 El Compuesto 1 (931,77 mg) y SDS (45,9 mg) se pesaron, y diluyeron con disolvente 1 (45,9 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente para obtener una solución homogénea 1 que contiene compuesto 1 a una concentración de 20,0 mg/ml; se tomó la solución homogénea 1 (19,69 ml) que contiene compuesto 1 (20,0 mg/ml), y se añadió el disolvente 2 (19,69 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente para obtener una solución homogénea 2 que contiene compuesto 1 a una concentración de 10,0 mg/ml; se tomó la solución homogénea 2 (13,125 ml) que contiene compuesto 1 (10,0 mg/ml) y se añadió el disolvente 2 (13,125 ml); la mezcla resultante se molió homogéneamente para obtener una solución homogénea 3 que contiene compuesto 1 a una concentración de 5,0 mg/ml.

20 **Procedimiento experimental**

Cultivo celular:

Se cultivaron células U87MG de ATCC en medio MEM que contiene 10% de suero bovino fetal; las células se digirieron con tripsina que contiene EDTA por métodos convencionales; las células se pasaron durante dos generaciones cada semana, y se cultivaron continuamente en un incubador de CO₂ 5% a 37 °C.

25 **Siembra y agrupamiento celular:**

- 30 Se recolectaron células tumorales en fase de crecimiento exponencial; las células U87MG se ajustaron con PBS y matrigel en una relación de 1: 1 a una concentración de 5×10^7 /ml; se sembraron 0,1 ml de suspensión celular por vía subcutánea en la parte posterior derecha de cada ratón mediante inyección con una jeringa de 1 ml. Se observaron y midieron los volúmenes tumorales, y el volumen tumoral promedio de U87MG alcanzó aproximadamente 200 mm³ 8 días después de la siembra; los ratones portadores del tumor se agruparon y se trataron por administración oral de los compuestos de prueba, a una dosis de 0,1 ml/10 g de peso corporal.

Administración:

Los compuestos de prueba se administran por los procedimientos listados en la siguiente tabla:

Compuesto de prueba	Casos de animales experimentales	Vía de administración	dosis (mg/kg)	Concentración de administración (mg/ml)	volumen (ml/kg)	Período de administración
Agente de control	10	administración intragástrica (PO)	50	5,0	10	QD, 3 semanas
	10	administración intragástrica (PO)	100	10,1	10	QD, 3 semanas
Compuesto 1	10	administración intragástrica (PO)	50	5,0	10	QD, 3 semanas
	10	administración intragástrica (PO)	100	10,0	10	QD, 3 semanas
	10	administración intragástrica (PO)	200	20,0	10	QD, 3 semanas

Recolección de sangre: la sangre se recolectó del canto intraocular. Después de la última administración (día 22) del agente de control y compuesto 1, se recolectó sangre/tumor en los mismos puntos de tiempo, en que 10 ratones desnudos para cada grupo de dosis, uno estaba en modo de espera y los otros 9 ratones se dividieron en tres grupos, es decir, grupos A, B y C.

- 5 Grupo A (Núm. 1-3): se recolectó sangre antes de administración, y a 1 h y 2 h después de administración, y el ratón se sacrificó después de la recolección de sangre a 2 h;

Grupo B (Núm. 4-6): se recolectó sangre a 15 min, 4 h y 6 h después de administración, y el ratón se sacrificó después de la recolección de sangre a 6 h;

- 10 Grupo C (Núm. 7-9): se recolectó sangre a 30 min, 10 h y 24 h después de administración, y el ratón se sacrificó después de la recolección de sangre a 24 h;

Se recolectaron 300 μ l de sangre entera en cada punto de tiempo, se añadieron a un tubo de anticoagulación que contiene K₂EDTA y se centrifugaron a 8000 r/min en una centrífuga de alta velocidad durante 6 minutos para separar el plasma; el plasma se almacenó en un refrigerador a -80 °C.

Análisis de muestra de plasma

- 15 Las muestras de plasma de agente de control y compuesto 1 se analizaron por precipitación de proteína: 30 μ l plasma se añadió a una placa de 96 pocillos profundos, y se añadieron 200 μ l de estándar interno (solución de acetonitrilo que contiene 25 ng/ml PD0332991); la mezcla resultante se agitó en vórtex durante 3 min a 1500 r/min, y se centrifugó durante 20 min a 4000 r/min; a 100 μ l de sobrenadante, se añadieron 100 μ l de agua; la mezcla resultante se mezcló homogéneamente bajo agitación con vórtex y se analizó por LC-MS/MS.
- 20 Tabla 7-1: Resultado de la evaluación PK del agente de control in ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max}	C _{max}	AUC _{last} (h*ng/ml)
LY2835219	50	1,00	1156	19356
	100	4,00	1533	27922

Tabla 7-2: Resultado de la evaluación PK del Compuesto 1 in ratón desnudo

Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	T _{max}	C _{max}	AUC _{last} (h*ng/ml)
Compuesto 1	50	2,00	1770	23453
	100	1,00	2183	34765
	200	6,00	2513	49678

AUC_{last} representa área bajo la curva de concentración-tiempo durante la administración 0→t.

T_{max} representa tiempo de concentración sanguínea máxima.

C_{max} representa concentración sanguínea máxima.

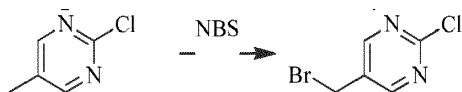
- 25 Como se observa a partir de los resultados experimentales mostrados en las Tablas 7-1 y 7-2, en comparación con el agente de control, los compuestos de acuerdo con la invención tienen buenas propiedades farmacocinéticas; el compuesto 1 es superior al agente de control positivo en la misma dosis con respecto a la dosis de exposición y C_{max}.

Esquemas de preparación

- 30 Los esquemas de preparación ejemplificados se proporcionan para una parte de los compuestos de acuerdo con la invención. Sin embargo, se debe entender que los siguientes experimentos se proporcionan meramente con el propósito de ilustrar la invención, en lugar de restringir el alcance de la invención. Una persona experta en la técnica,

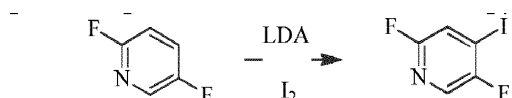
sobre la base de las enseñanzas contenidas en la descripción, puede realizar diversas modificaciones o mejoras a las soluciones técnicas de la invención sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

Ejemplo de preparación 1: Preparación de 5-(bromometil)-2-cloropirimidina



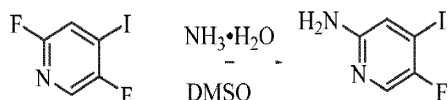
- 5 2-cloro-5-metilpirimidina (12,86 g, 0,1 mol) se disolvió en tetracloruro de carbono (300 ml), y *N*-bromobutanamida (25,72 g, 0,14 mol) y peróxido de benzoilo (1,29 g, 5 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla resultante se calentó a reflujo en baño de aceite, y se enfrió a temperatura ambiente después de reaccionar durante 8 h. La mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (8,7 g, rendimiento: 42%).

10 Ejemplo de preparación 2: Preparación de 2,5-difluoro-4-yodopiridina



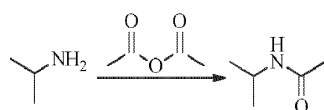
- Se añadió diisopropilamina (17 ml, 122 mmol) a tetrahydrofurano (220 ml), y la mezcla se enfrió a -20 °C. Bajo la protección de nitrógeno, se añadió lentamente *n*-butil litio (49 ml, 122,5 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a -20 °C durante 0,5 h, y se enfrió a -78 °C. 2,5-difluoropiridina (13,3 g, 115 mmol) en tetrahydrofurano (30 ml) se añadió lentamente y se agitó a la temperatura durante 4 h. Se disolvió yodo (32 g, 126 mmol) en tetrahydrofurano (100 ml), y se añadió lentamente a dicha solución de reacción a -78 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó durante 1 h. Después de añadir agua (10 ml) y tetrahydrofurano (30 ml), la temperatura aumentó a la temperatura ambiente. Se añadió solución saturada de tiosulfato de sodio. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con éter acético (3×100 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron por sulfato de sodio anhidro, se filtraron bajo succión, y el filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=50:1) para obtener el compuesto del título (13,5 g, rendimiento: 48%).

Ejemplo de preparación 3: Preparación de 5-fluoro-4-yodopiridin-2-amina



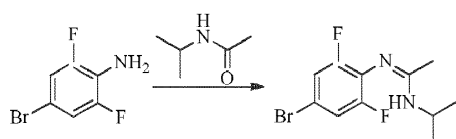
- 25 2,5-difluoro-4-yodopiridina (4,82 g, 20 mmol) se disolvió en DMSO (40 ml), y se añadió agua de amoníaco (40 ml) bajo agitación. La mezcla se agitó durante 12 h a 90 °C en un tubo sellado. Se añadió éter acético (150 ml) para separar la fase orgánica, y la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (2,38 g, rendimiento: 50%).

Ejemplo de preparación 4: Preparación de *N*-isopropilacetamida



- 30 Isopropilamina (5,0 g, 84,7 mmol) y trietilamina (12,8 g, 126,7 mmol) se disolvieron en diclorometano (50 ml), y la temperatura se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente anhídrido acético (17,3 g, 169,4 mmol). Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente, y reaccionó durante 12 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. Al residuo, se añadieron éter acético (100 ml) y carbonato de potasio (20 g). Después de agitar durante 6 h, la mezcla se filtró bajo succión, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título oleoso (7,65 g, rendimiento: 89,5%).

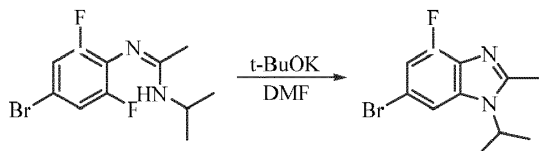
Ejemplo de preparación 5: Preparación de (Z)-*N'*-(4-bromo-2,6-difluorofenil)-*N*-isopropil acetamidina



- 40 4-bromo-2,6-difluoroanilina (7,87 g, 37,9 mmol), *N*-isopropilacetamida (7,65 g, 75,7 mmol) y trietilamina (5,7 g, 56,9 mmol) se disolvieron en tolueno (150 ml), y se añadió lentamente oxicloruro de fósforo (5,8 g, 37,9 mmol). Después

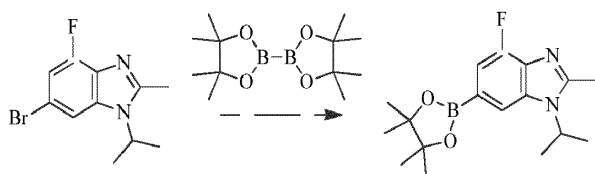
de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h. Posteriormente, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y se añadió diclorometano (200 ml). La mezcla resultante se lavó con solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio (2×100 ml) dos veces, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró bajo succión, y se destiló bajo presión reducida, para obtener el compuesto del título sólido (7,3 g, rendimiento: 66,2%).

Ejemplo de preparación 6: Preparación de 6-bromo-4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol



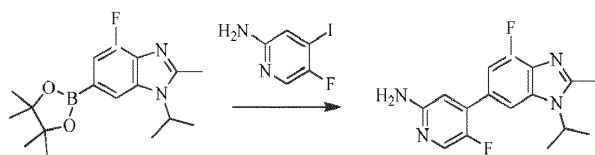
(*Z*)-*N'*-(4-bromo-2,6-difluorofenil)-*N*-isopropil acetamida (7,0 g, 24,1 mmol) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (50 ml), y se añadió terc-butoxido de potasio (3,2 g, 28,9 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta 100 °C y reaccionó durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y diclorometano (100 ml) y agua NaCl saturada (50 ml) se añadieron para separar la fase orgánica. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=2:1) para obtener el compuesto del título sólido (4,0 g, rendimiento: 61,3%).

Ejemplo de preparación 7: Preparación de 4-fluoro-1-isopropil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolane-2-il)-1*H*-benzo[d]imidazol



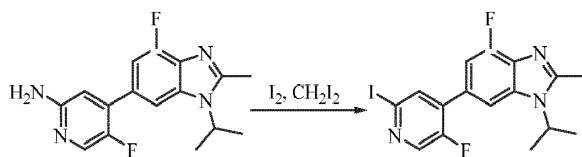
6-bromo-4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol (9,0 g, 33,2 mmol), bis(pinacolato)diboro (12,65 g, 49,8 mmol), acetato de paladio (840 mg, 3,75 mmol), triclorohexilfosfina (1,63 g, 5,8 mmol) y acetato de potasio (9,78 g, 99,8 mmol) se añadieron a DMSO (60 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 80 °C y reaccionó durante 6 h. Se añadieron agua (200 ml) y éter acético (200 ml) para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético dos veces y las fases orgánicas se combinaron, y se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:2) para obtener el compuesto del título (6,0 g, rendimiento: 56,8%).

Ejemplo de preparación 8: Preparación de 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina



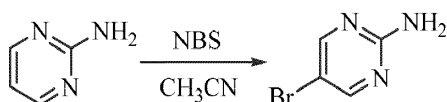
4-fluoro-1-isopropil-2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolane-2-il)-1*H*-benzo[d]imidazol (3,18 g, 10 mmol), 5-fluoro-4-yodopiridin-2-amina (2,38 g, 10 mmol), carbonato de potasio (2,76 g, 20 mmol) y tetrakis(trifenilfosfino)paladio (1,15 g, 1 mmol) se añadieron a un tubo de microondas de 35 ml, y se añadieron 1,4-dioxano (15 ml) y agua (3 ml). La mezcla se hizo reaccionar a 120 °C bajo condición de microondas durante 1 h. Agua y éter acético se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, y se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (2,1 g, rendimiento: 69,5%).

Ejemplo de preparación 9: Preparación de 4-fluoro-6-(5-fluoro-2-yodopiridin-4-il)-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol



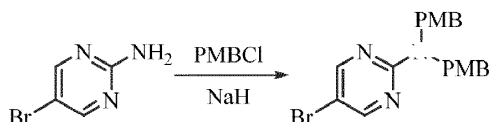
5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (1,0 g, 3,31 mmol) se disolvió en diyodometano (30 ml), y se añadieron CuI (0,63 g, 3,32 mmol), nitrito de *terc*-butilo (0,341 g, 3,31 mmol) y yodo (0,84 g, 3,31 mmol). La mezcla se calentó a 85 °C y reaccionó durante 15 min. La mezcla resultante se enfrió y posteriormente se separó directamente por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=200:1~1:1) para obtener el compuesto del título (700 mg, rendimiento: 51,1%).

Ejemplo de preparación 10: Preparación de 5-bromo-2-aminopirimidina



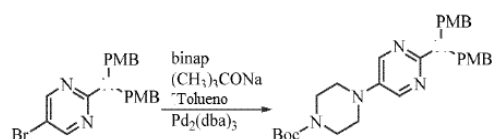
2-aminopirimidina (20,0 g, 0,21 mol) se disolvió en acetonitrilo (500 ml), y se añadió *N*-bromobutanamida (37,0 g, 0,21 mol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 4 h, y se filtró bajo succión. La torta de filtración se secó para obtener el producto (33,0 g, rendimiento: 90,2%).

Ejemplo de preparación 11: Preparación de 5-bromo-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina



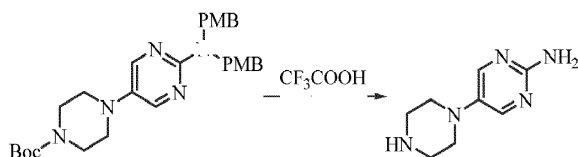
5-Bromo-2-aminopirimidina (8,9 g, 51,15 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (150 ml), e hidruro de sodio (4,4 g, 110,0 mmol, 60%) se añadió lentamente bajo la condición de baño de hielo. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. Se añadió cloruro de 4-metoxibencilo (20,0 g, 127,71 mmol), y la mezcla se calentó a 75 °C y reaccionó durante 8 h. Se añadió agua helada para inactivar la reacción, y la solución de reacción se extrajo con éter acético (200 ml). La fase acuosa se lavó con éter acético (50 ml), y las fases orgánicas se combinaron, secaron, concentraron y separaron por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo:éter acético=20:1) para obtener el compuesto del título (10,0 g, rendimiento: 47,2%).

Ejemplo de preparación 12: Preparación de 4-(2-(bis(4-metoxibencil)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



5-bromo-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina (10,0 g, 24,1 mmol), piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (8,97 g, 48,2 mmol), *terc*-butóxido de sodio (4,63 g, 48,2 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (200 mg) y -2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo racémico (400 mg) se añadieron a tolueno (200 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 80 °C durante 8 h, y el disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético= 1:1) para obtener el compuesto del título (6,2 g, rendimiento: 49,6%).

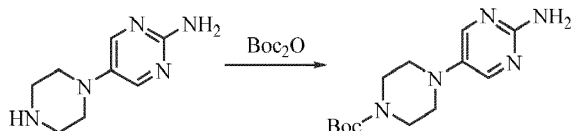
Ejemplo de preparación 13: Preparación de 5-(piperazin-1-il)pirimidin-2-amina



4-(2-(bis(4-metoxibencil)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,2 g, 11,9 mmol) se disolvió en una solución mezclada de diclorometano (30 ml) y ácido trifluoroacético (30 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. Se añadió una pequeña cantidad de

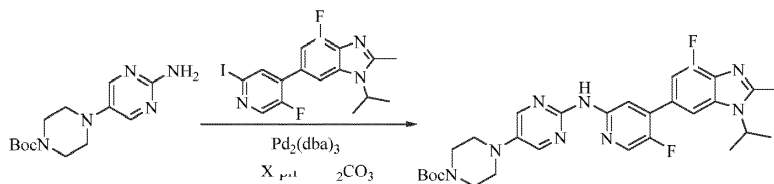
diclorometano, y se realizó de nuevo la destilación bajo rotación para eliminar el disolvente y obtener el producto bruto (2,1 g). El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación.

Ejemplo de preparación 14: Preparación de 4-(2-aminopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo



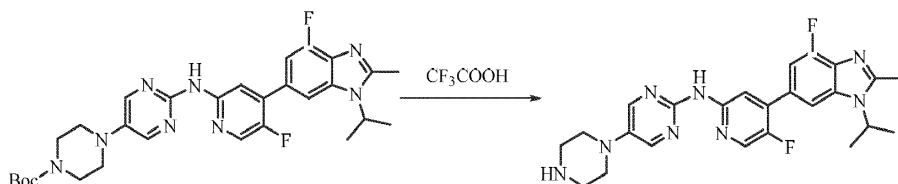
- 5 5-(Piperazin-1-il)pirimidin-2-amina (2,1 g, 11,7 mmol) se disolvió en diclorometano (25 ml), y se añadió trietilamina (1,77 g, 17,5 mmol). Bicarbonato de Di-*tert*-butilo (3,05 g, 14,0 mmol) se añadió gota a gota. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (1,52 g, rendimiento de dos etapas: 45,8%).

10 **Ejemplo de preparación 15: Preparación de 4-(2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo**



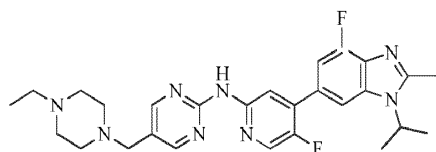
- 15 4-(2-aminopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (475 mg, 1,70 mmol) y 4-fluoro-6-(5-fluoro-2-iodopiridin-4-il)-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol (350 mg, 0,85 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (20 ml), y se añadieron carbonato de cesio (826 mg, 2,54 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (78 mg, 0,085 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (81 mg, 0,17 mmol). Bajo la protección del nitrógeno, la mezcla se calentó a 110 °C y reaccionó durante 16 h. La solución de reacción se filtró, y el filtrado se concentró y se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (250 mg, rendimiento: 52,1%).

20 **Ejemplo de preparación 16: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-2-il)pirimidin-2-amina**

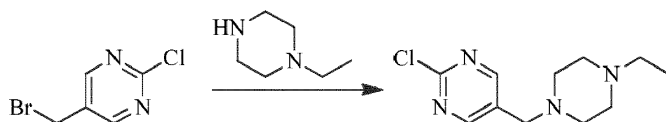


- 25 4-(2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (250 mg, 0,44 mmol) se disolvió en una solución mixta de diclorometano (5 ml) y ácido trifluoroacético (5 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y se añadió diclorometano (10 ml). El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (180 mg, rendimiento: 88,1%).

30 **Ejemplo 1: Preparación de 5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 1)**

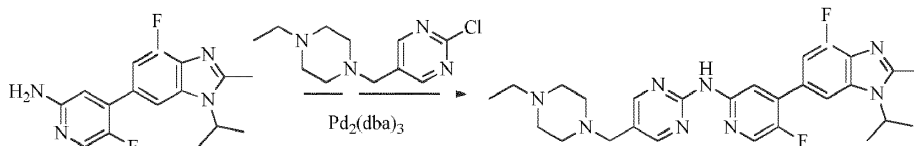


(1) Preparación de 2-cloro-5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)pirimidina



5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (4,14 g, 20 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (70 ml), y trietilamina (6,06 g, 60 mmol) y 1-etilpiperazina (4,56 g, 40 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después la materia prima desapareció según se detectó por TLC, la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (3,4 g, rendimiento: 70,8%).

(2) Preparación de 5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

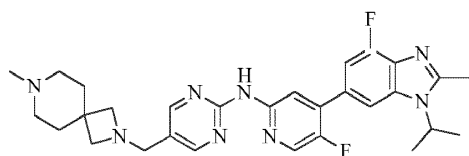


5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (700 mg, 2,32 mmol), 2-cloro-5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)pirimidina (557 mg, 2,32 mmol), 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (221 mg, 0,38 mmol), carbonato de cesio (2,26 g, 6,96 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (212 mg, 0,23 mmol) se añadieron a un frasco de 100 ml en forma de berenjena, y se añadió 1,4-dioxano (50 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110 °C durante 4 h, y la mezcla resultante se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=15:1) para obtener el compuesto del título (500 mg, rendimiento: 42,6%).

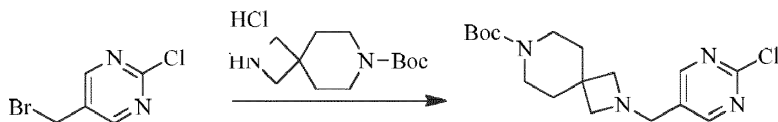
Fórmula molecular: C₂₇H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 506,3 LC-MS (m/z): 507,4(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, MeOD-d₄) : δ: 8,56 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 8,49 (s, 2H), 8,26 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,27 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,50 (s, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,38 - 2,64 (m, 10H), 1,70 (d, J = 7,2 Hz, 6H), 1,11 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Ejemplo 2: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((7-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-2-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 2)



(1) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-7-carboxilato de terc-butilo



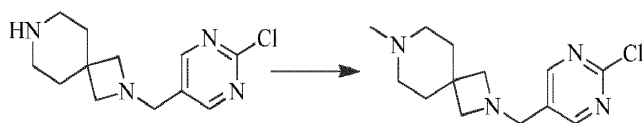
5-Bromometil-2-cloropirimidina (235 mg, 1,14 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (5 ml), y se añadieron clorhidrato de 2,7-diazaspiro[3,5]nonan-7-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 1,14 mmol) y trietilamina (345 mg, 3,42 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y el disolvente excesivo se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (5 ml), y se extrajo con éter acético (3 × 10 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se secó bajo rotación. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (240 mg, rendimiento: 60%).

(2) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonan



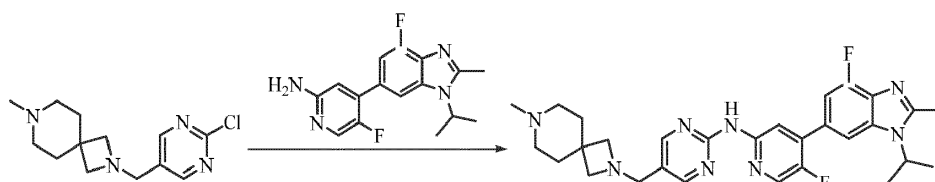
2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-7-carboxilato de terc-butilo (240 mg, 0,68 mmol) se disolvió en diclorometano (2 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente excesivo se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (156 mg, rendimiento: 91%).

(3) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-7-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonano



2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonano (156 mg, 0,62 mmol) se disolvió en acetonitrilo (5 ml), y se añadieron solución acuosa de formaldehído 37% (251 mg, 3,1 mmol) y cianoborohidruro de sodio (78 mg, 1,24 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente excesivo se eliminó por destilación a presión reducida, y el producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (100 mg, rendimiento: 61%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((7-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-2-il)metil)pirimidin-2-amina

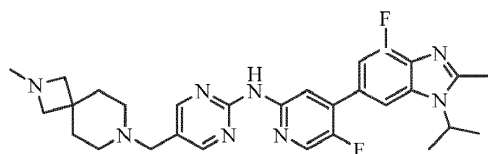


5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (113 mg, 0,37 mmol) y 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonano (100 mg, 0,37 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (5 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (34 mg, 0,037 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (35 mg, 0,074 mmol) y carbonato de cesio (300 mg, 0,93 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se agitó bajo reflujo durante la noche, y se filtró. El disolvente excesivo se eliminó por destilación a presión reducida. El producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (17 mg, rendimiento: 8,6%).

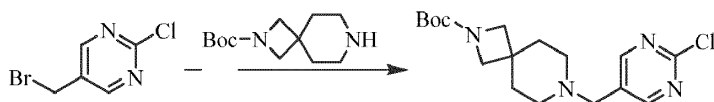
Fórmula molecular: $C_{29}H_{34}F_2N_8$ Peso molecular: 532,6 LC-MS (m/z): 533(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ: 8,53 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,50 (s, 2H), 8,27 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,27 (d, J=11,2 Hz, 1H), 3,68 (s, 2H), 3,21-3,22 (m, 4H), 2,80-3,00 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 1,90-2,00 (m, 4H), 1,70 (d, J=6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 3: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((2-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-7-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 3)

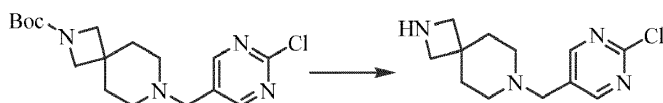


(1) Preparación de 7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-2-carboxilato de *tert*-butilo



5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (220 mg, 1,06 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (5 ml), y se añadieron 2,7-diazaspiro[3,5]nonan-2-carboxilato de *tert*-butilo (200 mg, 0,88 mmol) y trietilamina (268 mg, 2,65 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (5 ml), y se extrajo con éter acético (3×10 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se secó bajo rotación. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (190 mg, rendimiento: 60,5%).

(2) Preparación de 7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonano



7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-2-carboxilato de *tert*-butilo (190 mg, 0,54 mmol) se disolvió en diclorometano (2 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante

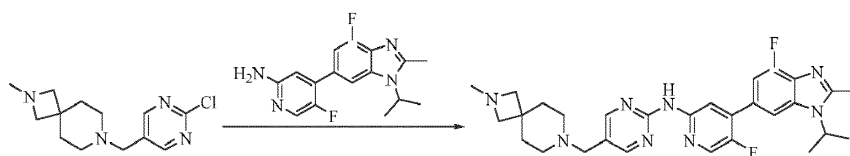
2 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (110 mg, rendimiento: 81%).

(3) Preparación de 7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonano



- 5 7-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonano (110 mg, 0,44 mmol) se disolvió en acetonitrilo (5 ml), y se añadieron solución acuosa de formaldehído 37% (178 mg, 2,2 mmol) y cianoborohidruro de sodio (55 mg, 0,88 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (80 mg, rendimiento: 68%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((2-metil-2,7-diazaspiro[3,5]nonan-7-il)metil)pirimidin-2-amina

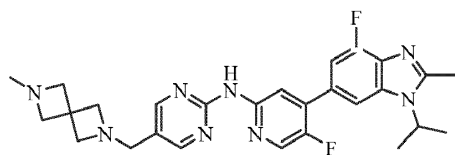


- 15 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (90 mg, 0,3 mmol) y 7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,7-diazaspiro[3,5]nonano (80 mg, 0,3 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano (5 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (27 mg, 0,03 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (29 mg, 0,06 mmol) y carbonato de cesio (244 mg, 0,75 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se agitó bajo reflujo durante la noche, y se filtró. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (8 mg, rendimiento: 5%).

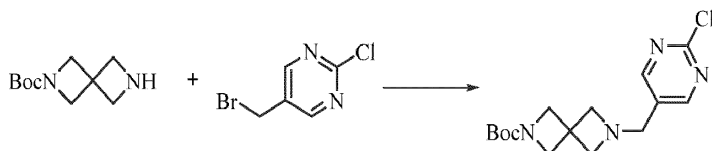
- 20 Fórmula molecular: $C_{29}H_{34}F_2N_8$ Peso molecular: 532,6 LC-MS (m/z): 533(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, MeOD-d₄) δ: 8,67 (s, 2H), 8,56 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,31 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,23 (d, J=11,6 Hz, 1H), 4,00-4,11 (m, 6H), 3,00-3,19 (m, 4H), 2,96 (s, 3H), 2,69 (s, 3H), 2,11-2,21 (m, 4H), 1,69 (d, J=6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 4: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((6-metil-2,6-diazaspiro[3,3]heptan-2-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 4)

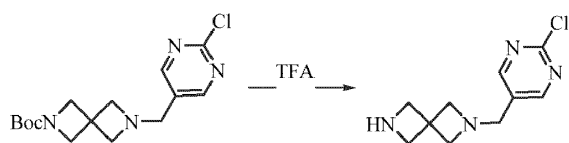


(1) Preparación de 6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,6-diazaspiro[3,3]heptan-2-carboxilato de terc-butilo



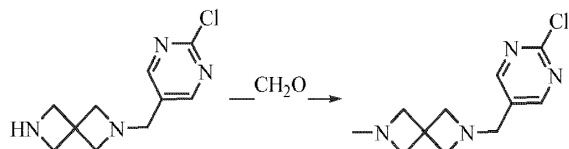
- 30 5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (326 mg, 1,57 mmol) se disolvió en acetonitrilo (10 ml), y se añadieron carbonato de potasio (433 mg, 3,14 mmol) y 2,6-diazaspiro[3,3]heptan-2-carboxilato de *terc*-butilo (310 mg, 1,57 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (330 mg, rendimiento: 65%).

(2) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,6-diazaspiro[3,3]heptano



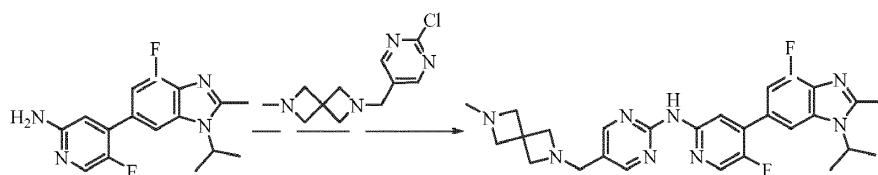
6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-2,6-diazaspiro[3,3]heptan-2-carboxilato de *tert*-butilo (330 mg, 1,01 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se concentró para obtener el compuesto del título oleoso (210 mg, rendimiento: 93%).

5 (3) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-2,6-diazaspiro[3,3]heptano



2-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-2,6-diazaspiro[3,3]heptano (210 mg, 0,94 mmol) se disolvió en acetonitrilo (5 ml), y se añadieron solución de formaldehído (0,5 ml) y cianoborohidruro de sodio (65 mg, 1,04 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (150 mg, rendimiento: 67%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((6-metil-2,6-diazaspiro[3,3]heptan-2-il)metil)pirimidin-2-amina

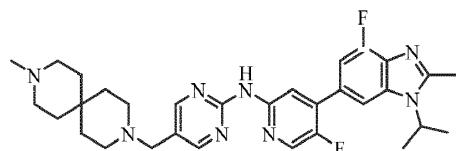


5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (190 mg, 0,63 mmol) y 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-2,6-diazaspiro[3,3]heptano (150 mg, 0,63 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (10 ml), y se añadieron 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (60 mg, 0,13 mmol), carbonato de cesio (614 mg, 1,89 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (60 mg, 0,06 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110°C y reaccionó durante 16 h. La mezcla resultante se filtró bajo succión. El filtrado se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=5:1) para obtener el compuesto del título sólido (23 mg, rendimiento: 7%).

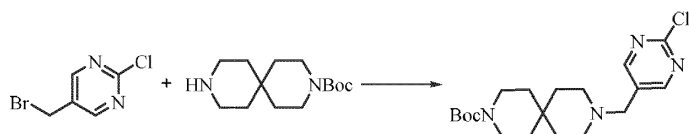
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,3 LC-MS (m/z): 505,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD-*d*₄) δ: 8,54 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,46 (s, 2H), 8,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,27 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 4,84-4,85 (m, 1H), 3,54 (s, 6H), 3,39 (s, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 1,69 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 5: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((9-metil-3,9-diazaspiro[5,5]undecan-3-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 5)



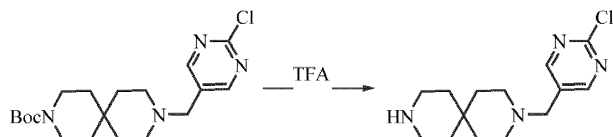
(1) Preparación de 9-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,9-diazaspiro[5,5]undecan-3-carboxilato de *tert*-butilo



5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (326 mg, 1,57 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano(10 ml), y trietilamina (158 mg, 1,57 mmol) y 3,9-diazaspiro[5,5]undecan-3-carboxilato de *tert*-butilo (200 mg, 0,79 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, y se filtró bajo succión. El filtrado se

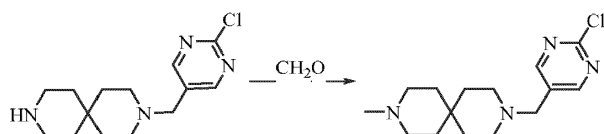
concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (210 mg, rendimiento: 70%).

(2) Preparación de 3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,9-diazaspiro[5,5]undecano



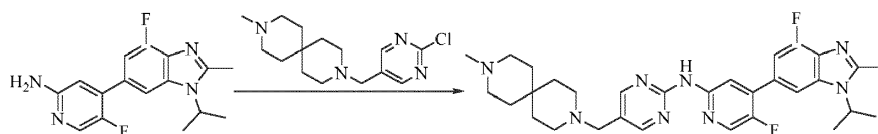
- 5 9-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,9-diazaspiro[5,5]undecan-3-carboxilato de *tert*-butilo (210 mg, 0,55 mmol) se añadió a diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, y se concentró para obtener el compuesto del título (145 mg, rendimiento: 94%).

(3) Preparación de 3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-9-metil-3,9-diazaspiro[5,5]undecano



- 10 3-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3,9-diazaspiro[5,5]undecano (145 mg, 0,52 mmol) se disolvió en acetonitrilo (5 ml), y solución acuosa de formaldehído 37% (0,5 ml) y cianoborohidruro de sodio (65 mg, 1,04 mmol) se añadieron bajo agitación. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla resultante se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (65 mg, rendimiento: 42,7%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((9-metil-3,9-diazaspiro[5,5]undecan-3-il)metil)pirimidin-2-amina

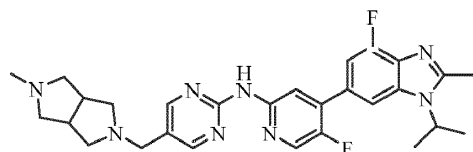


- 20 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (77 mg, 0,26 mmol), 3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-9-metil-3,9-diazaspiro[5,5]undecano (65 mg, 0,22 mmol), 2-diciclohexilfosfina-2',4',6'-triisopropilbifenil (20 mg, 0,04 mmol), carbonato de cesio (205 mg, 0,63 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (20 mg, 0,02 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110 °C durante 16 h, y posteriormente la mezcla de reacción se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (10 mg, rendimiento: 8%).

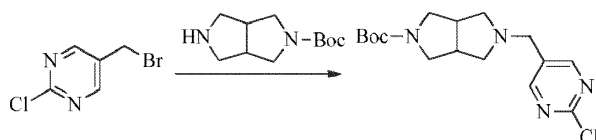
- 25 Fórmula molecular: C₃₁H₃₈F₂N₈ Peso molecular: 560,7 LC-MS (m/z): 561,4 (M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD-*d*₄) δ: 8,54 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,49 (s, 2H), 8,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,28 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,53 (s, 2H), 2,98-3,07 (m, 4H), 2,71-2,68 (m, 6H), 2,50-2,52 (m, 4H), 1,66-1,71 (m, 9H), 1,61-1,65 (m, 5H).

Ejemplo 6: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((5-metilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 6)



(1) Preparación de 5-((2-cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-carboxilato de *tert*-butilo



hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1*H*)-carboxilato de *terc*-butilo (318 mg, 1,5 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (310 mg, 1,5 mmol) se disolvieron en acetonitrilo (50 ml), y se añadió carbonato de potasio (621 mg, 4,5 mmol). La mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla se filtró. El filtrado se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (430 mg, rendimiento: 85%).

(2) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidropirrol[3,4-c]pirrol



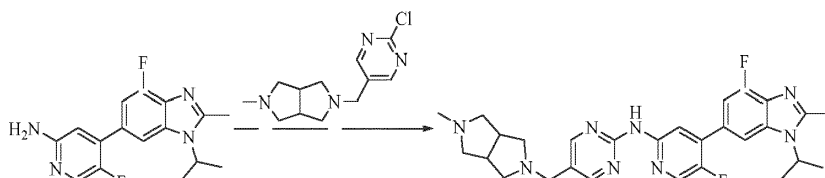
5-((2-cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1*H*)-carboxilato de *terc*-butilo (430 mg, 1,27 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título como aceite amarillo (302 mg bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-5-metiloctahidropirrol[3,4-c]pirrol



2-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-c]pirrol (302 mg de producto bruto) se disolvió en metanol (50 ml). Se añadió solución acuosa de formaldehído (37%, 1 g, 12,3 mmol) a temperatura ambiente, la reacción se llevó a cabo durante 2 h. Se añadió cianoborohidruro de sodio (0,8 g, 12,7 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Después de la reacción, la solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (260 mg, rendimiento de dos etapas 81%).

(4) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((5-metilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1*H*)-il)metil)pirimidin-2-amina

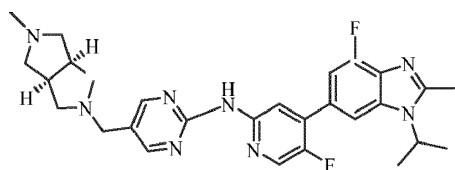


5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (302 mg, 1,0 mmol) y 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-5-metiloctahidropirrol[3,4-c]pirrol (252 mg, 1,0 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (50 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (92 mg, 0,1 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (95 mg, 0,2 mmol) y carbonato de cesio (975 mg, 3,0 mmol). Bajo la protección del nitrógeno, la mezcla se calentó a 110°C y reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (100 ml) y éter acético (150 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (150 ml×2), y las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (223 mg, rendimiento: 43%).

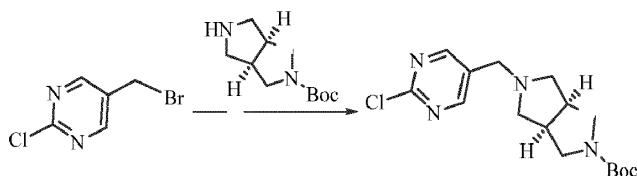
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (*m/z*): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10,03 (s, 1H), 8,45 (s, 2H), 8,43 (d, *J*=6,4Hz, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, *J*=11,6Hz, 1H), 4,80-4,83 (m, 1H), 3,34-3,49 (m, 6H), 2,66 (brs., 4H), 2,61 (s, 3H), 2,35 (brs., 5H), 1,57 (d, *J*=6,8Hz, 6H).

Ejemplo 6-1: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-5-metilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1*H*)-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 6-1)

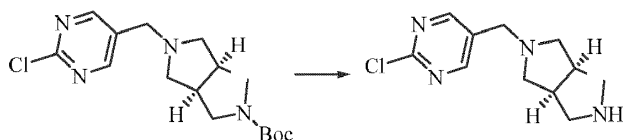


(1) Preparación de 5-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-(cis)-hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-carboxilato de terc-butilo



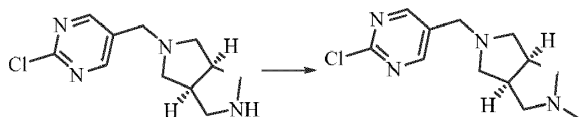
- 5 (cis)-hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 1,41 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (292,5 mg, 1,41 mmol) se disolvieron en acetonitrilo (50 ml), y se añadió carbonato de potasio (585 mg, 4,23 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se filtró. El filtrado se secó con destilación, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (402 mg, rendimiento: 82%).

(2) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-(cis)-octahidropirrol[3,4-c]pirrol



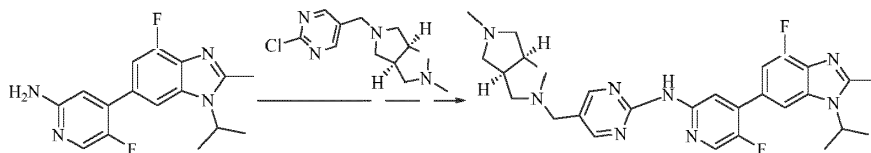
- 10 5-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-(cis)-hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-carboxilato de terc-butilo (400 mg, 1,18 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (300 mg producto bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-5-metil-(cis)-octahidropirrol[3,4-c]pirrol



- 20 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-(cis)-octahidropirrol[3,4-c]pirrol (300 mg) bruto se disolvió en metanol (50 ml). Se añadió solución acuosa de formaldehído (37%, 0,96 g, 11,8 mmol) a temperatura ambiente, la reacción se llevó a cabo durante 2 h. Se añadió cianoborohidruro de sodio (0,74 g, 11,8 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Después de la reacción, el disolvente se secó con destilación, y el residuo se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (175 mg, rendimiento de dos etapas: 58%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-5-metilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2(1H)-il)metil)pirimidin-2-amina



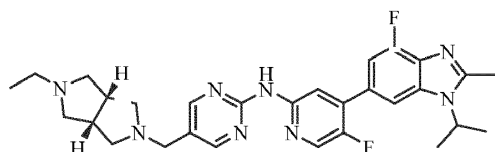
- 25 5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (302 mg, 1,0 mmol) y 2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-5-metil-(cis)-octahidropirrol[3,4-c]pirrol (252 mg, 1,0 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (50 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (92 mg, 0,1 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (95 mg, 0,2 mmol) y carbonato de cesio (975 mg, 3,0 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110 °C y reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (100 ml) y éter acético (150 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (150 ml×2), y las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía

en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (207 mg, rendimiento: 40%).

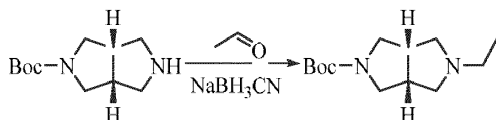
Fórmula molecular: $C_{28}H_{32}F_2N_8$ Peso molecular: 518,60 LC-MS (m/z): 519,3($M+H^+$)

5 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,64 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 8,48-8,47 (m, 3H), 8,29 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,64 (t, $J=1,2$ Hz, 1H), 7,25 (d, $J=9,6$ Hz, 1H), 4,70-4,74 (m, 1H), 3,57 (s, 2H), 3,40 (brs, 2H), 3,07 (s, 2H), 2,64-2,69 (m, 10H), 2,40-2,48 (m, 2H), 1,69 (d, $J=6,8$ Hz, 6H).

Ejemplo 6-2: Preparación de 5-(((*cis*)-5-etilhexahidropirrol[3,4-*c*]pirrol-2(1*H*)-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 6-2)

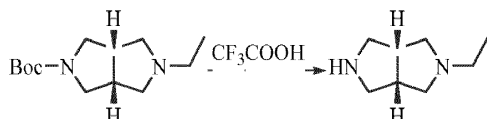


10 **(1) Preparación de (*cis*)-5-etilhexahidropirrol[3,4-*c*]pirrol-2(1*H*)-carboxilato de terc-butilo**



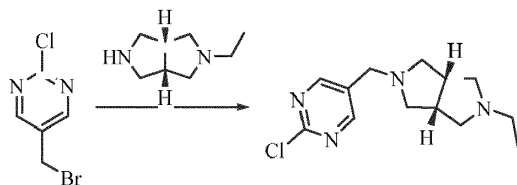
15 (*cis*)-Hexahidropirrol[3,4-*c*]pirrol-2(1*H*)-carboxilato de terc-butilo (424 mg, 2,0 mmol) se disolvió en metanol (10 ml), y solución acuosa de acetaldehído (40%, 2,2 ml, 20 mmol) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Cianoborohidruro de sodio (1,26 g, 20 mmol) se añadió lentamente. Después de la adición, la mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó por evaporación bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (317 mg, rendimiento: 66,0%).

(2) Preparación de (*cis*)-2-etiloctahidropirrol[3,4-*c*]pirrol



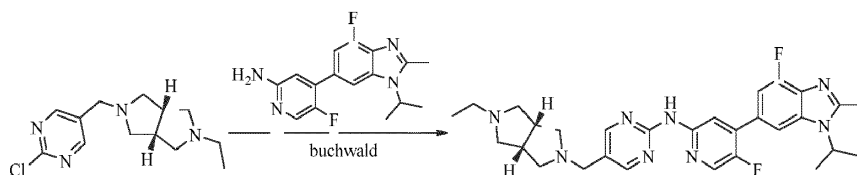
20 (*cis*)-5-Etilhexahidropirrol[3,4-*c*]pirrol-2(1*H*)-carboxilato de terc-butilo (317 mg, 1,32 mmol) se disolvió en una solución mixta de diclorometano (3 ml) y ácido trifluoroacético (3 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. Se añadió una pequeña cantidad de diclorometano y el disolvente se eliminó por destilación bajo rotación para obtener el producto bruto (181 mg). El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación.

25 **(3) Preparación de (*cis*)-2-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-5-etiloctahidropirrol[3,4-*c*]pirrol**



30 Al acetonitrilo (15 ml) se añadieron (*cis*)-2-etiloctahidropirrol[3,4-*c*]pirrol (181 mg, 1,29 mmol), 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (267 mg, 1,29 mmol) y carbonato de potasio (178 mg, 1,29 mmol), y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 60 °C durante 1 h. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (300 mg, rendimiento: 87,0%).

(4) Preparación de 5-(((*cis*)-5-etilhexahidropirrol[3,4-*c*]pirrol-2(1*H*)-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

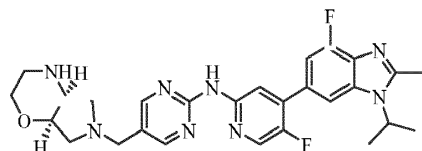


(*cis*)-2-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-5-etiloctahidropirrol[3,4-*c*]pirrol (300 mg, 1,12 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (338 mg, 1,12 mmol), carbonato de cesio (730 mg, 2,24 mmol), tris(dibencildenacetona)dipaladio (30 mg) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (60 mg) se añadieron a 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. La cromatografía en columna de fase inversa (agua: metanol=10:1-1:1) se realizó para obtener el compuesto del título (176 mg, rendimiento: 29,5%).

Fórmula molecular: C₂₉H₃₄F₂N₈ Peso molecular: 532,6 LC-MS (m/z): 533,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,64 (d, *J*=5,6 Hz, 2H), 8,44 (s, 2H), 8,29 (d, *J*=2,0 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,24-7,26 (m, 1H), 4,70-4,73 (m, 1H), 3,55 (s, 2H), 2,90-3,05 (m, 2H), 2,80-2,87 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,45-2,60 (m, 6H), 2,25-2,35 (m, 2H), 1,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 6H), 1,15-1,18 (m, 3H).

Ejemplo 7: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-6(2*H*)-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 7)

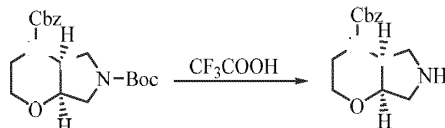


(1) Preparación de (*cis*)-Hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4,6-dicarboxilato de 4-bencil-6-*terc*-butilo



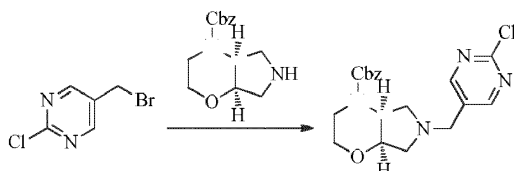
(*cis*)-Hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-6(2*H*)-carboxilato de *terc*-butilo (342 mg, 1,5 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (581 mg, 4,5 mmol) se disolvieron en diclorometano (30 ml), y cloroformiato de bencilo (358 mg, 2,1 mmol) se añadió gota a gota bajo la condición de baño de hielo. Después de la adición, la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió agua (30 ml) para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (50 ml×2). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se purificaron por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue éter de petróleo: éter acético de 5:1) para obtener el compuesto del título (473 mg, rendimiento: 87%).

(2) Preparación de (*cis*)-hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo



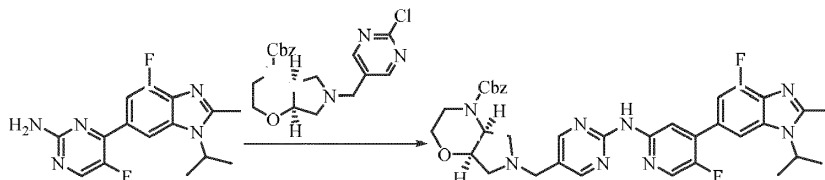
(*cis*)-Hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4,6-dicarboxilato de 4-bencil-6-*terc*-butilo (473 mg, 1,3 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (400 mg producto bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de (*cis*)-6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo



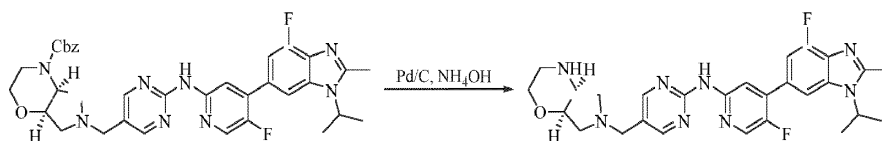
(*cis*)-Hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo (400 mg, producto bruto) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (269 mg, 1,3 mmol) se disolvieron en acetonitrilo (50 ml), y se añadió carbonato de potasio (538 mg, 3,9 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla se filtró. El filtrado se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (409 mg, rendimiento: 81%).

(4) Preparación de (*cis*)-6-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo



5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (302 mg, 1,0 mmol) y 6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)(*cis*)hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo (389 mg, 1,0 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (50 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (92 mg, 0,1 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenil (95 mg, 0,2 mmol) y carbonato de cesio (975 mg, 3,0 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110°C y reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (100 ml) y éter acético (150 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (150 ml×2), y las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (288 mg, rendimiento: 44%).

(5) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-6(2*H*)-il)metil)pirimidin-2-amina

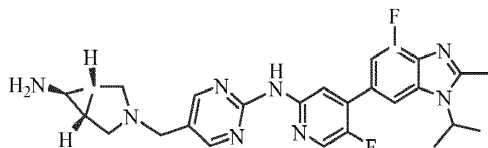


6-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)(*cis*)hexahidropirrol[3,4-*b*][1,4]oxazin-4(4*aH*)-carboxilato de bencilo (280 mg, 0,43 mmol) y paladio-carbón (30 mg) se suspendieron en metanol (40 ml) y agua amoniacal (6 ml). El sistema se aspiró al vacío, y se introdujo hidrógeno. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se filtró por celite, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (metanol: diclorometano=1:20, con la adición de trietilamina 0,2%) para obtener el compuesto del título como sólido blanco (178 mg, rendimiento: 80%).

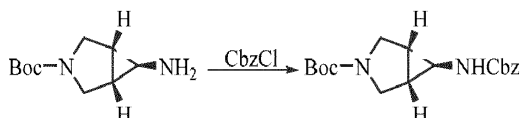
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈O Peso molecular: 520,6 LC-MS (*m/z*): 521,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10,02 (s, 1H), 8,44-8,42 (m, 3H), 8,35 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, J=11,6Hz, 1H), 4,79-4,83 (m, 1H), 3,79 (s, 1H), 3,16-3,60 (m, 6H), 3,15 (m, 1H), 2,91-2,95 (m, 1H), 2,80-2,85 (m, 1H), 2,73-2,69 (m, 1H), 2,54-2,65 (m, 5H), 1,57 (d, J=6,8Hz, 6H).

Ejemplo 8: Preparación de (*exo*)-3-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-6-amina (Compuesto 8)

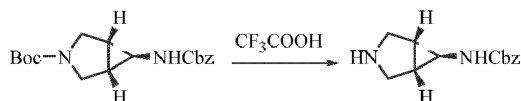


(1) Preparación de (*exo*)-6-((carbobenzoxi)amino)-3-azabicyclo[3,1,0]hexan-3-carboxilato de terc-butilo



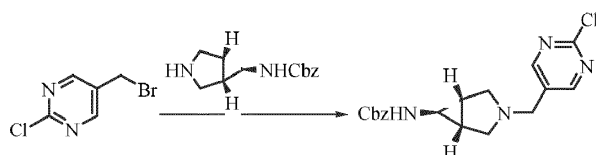
(*exo*)-6-Amino-3-azabicyclo[3,1,0]hexan-3-carboxilato de terc-butilo (396 mg, 2,0 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (774 mg, 6,0 mmol) se disolvieron en diclorometano (30 ml), y clorocarbato de bencilo (409 mg, 2,4 mmol) se añadió gota a gota bajo la condición de baño de hielo. Después de la adición, la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 h. La solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue éter de petróleo: éter acético=10:1) para obtener el compuesto del título (578 mg, rendimiento: 87%).

(2) Preparación de ((*exo*)-3-azabicyclo[3,1,0]hexan-6-il)carbamato de bencilo



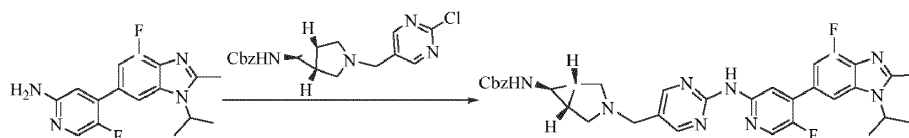
(*Exo*)-6-((carbobenzoxi)amino)-3-azabicyclo[3,1,0]hexan-3-carboxilato de terc-butilo (578 mg, 1,74 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (450 mg producto bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de ((*exo*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-6-il)carbamato de bencilo



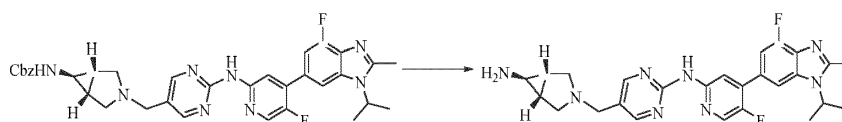
((*exo*)-3-Azabicyclo[3,1,0]hexan-6-il)carbamato de bencilo (450 mg producto bruto) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (415 mg, 2,0 mmol) se disolvieron en acetonitrilo (50 ml), y se añadió carbonato de potasio (828 mg, 6,0 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 h. La solución de reacción se filtró. El filtrado se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=50: 1) para obtener el compuesto del título (487 mg, rendimiento de dos etapas: 78%).

(4) Preparación de ((*exo*)-3-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-6-carbamato de bencilo



((*exo*)-3-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-6-il)carbamato de bencilo (480 mg, 1,34 mmol) y 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (405 mg, 1,34 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (50 ml), y se añadieron tris(dibencilidienacetona)dipaladio (119 mg, 0,13 mmol), 2-diciclohexilfosfina-2',4',6'-triisopropilbifenilo (124 mg, 0,26 mmol) y carbonato de cesio (1,3 g, 4,02 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110°C y reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (100 ml) y éter acético (150 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (150 ml×2). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (527 mg, rendimiento: 63%).

(5) Preparación de ((*exo*)-3-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-6-amina

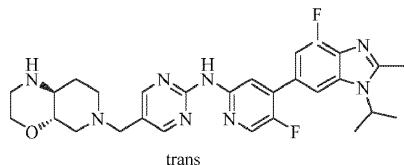


((*exo*)-3-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il) piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3-azabicyclo[3,1,0]hexan-6-il)carbamato de bencilo (500 mg, 0,80 mmol) y paladio-carbón (50 mg) se suspendieron en metanol (40 ml), y agua amoniacal (6 ml) se añadió gota a gota. El sistema se aspiró al vacío, y se introdujo hidrógeno. Después de la reacción a temperatura ambiente durante 16 h, la mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (192 mg, rendimiento: 49%).

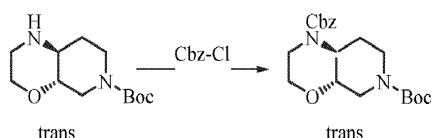
Fórmula molecular: $C_{26}H_{28}F_2N_8$ Peso molecular: 490,6 LC-MS (m/z): 491,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10,04 (s, 1H), 8,43 (d, *J*=6,0Hz, 1H), 8,39 (s, 2H), 8,35 (d, *J*=2,0Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, *J*=11,6Hz, 1H), 4,78-4,85 (m, 1H), 3,46 (s, 2H), 2,87 (d, *J*=8,8Hz, 2H), 2,62 (s, 3H), 2,55 (s, 1H), 2,33 (d, *J*=8,4Hz, 2H), 1,57-1,60 (m, 8H).

5 **Ejemplo 9: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*exo*)-octahidro-6*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-6-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 9)**

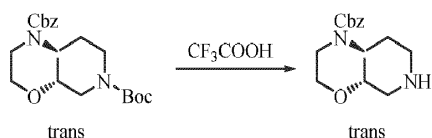


(1) Preparación de (*trans*)-hexahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1,6(5*H*)-dicarboxilato de 1-bencil 6-*tert*-butilo



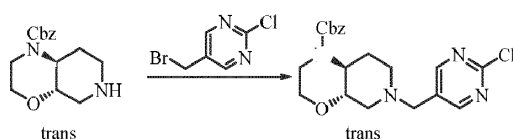
10 (*trans*)-Octahidro-6*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-6-carboxilato de *tert*-butilo (242 mg, 1,0 mmol) y trietilamina (120 mg, 1,2 mmol) se añadieron a diclorometano (5 ml). Cloroformiato de bencilo (188 mg, 1,1 mmol) se añadió gota a gota y lentamente bajo la condición de baño de hielo. Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. El disolvente se destiló bajo rotación para obtener el producto bruto (300 mg producto bruto), que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

15 **(2) Preparación de (*trans*)-octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo**



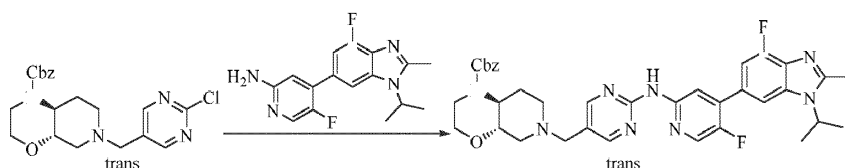
20 (*trans*)-Hexahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1,6(5*H*)-dicarboxilato de 1-bencil 6-*tert*-butilo se disolvió en una solución mixta de diclorometano (3 ml) y ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se destiló bajo rotación, y se añadió una pequeña cantidad de diclorometano. El disolvente se destiló bajo rotación nuevamente para obtener el producto bruto (260 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de (*trans*)-6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo



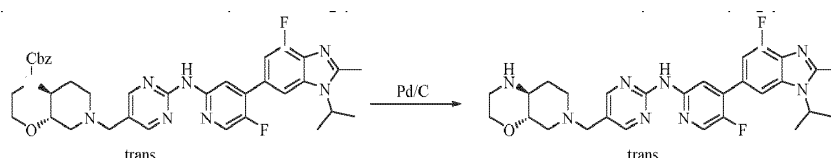
25 (*trans*)-Octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo (260 mg, 0,94 mmol), 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (393 mg, 1,9 mmol) y carbonato de potasio (786 mg, 5,7 mmol) se añadieron a acetonitrilo (15 ml), y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 60 °C durante 1 h. La solución se destiló bajo rotación, y se separó por cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo =10:1-1:1) para obtener el producto (300 mg, rendimiento de tres etapas:75%).

30 **(4) Preparación de (*trans*)-6-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo**



(*trans*)-6-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo (300 mg, 0,75 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (449 mg, 1,5 mmol), carbonato de potasio (317 mg, 2,3 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (30 mg), y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (60 mg, 0,13 mmol) se añadieron a 20 ml de 1,4-dioxano. Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h, y el disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. El residuo se purificó por cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo de 10:1-1:1) para obtener el compuesto del título (113 mg, rendimiento: 23%).

(5) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*trans*)-octahidro-6*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-6-il)metil)pirimidin-2-amina

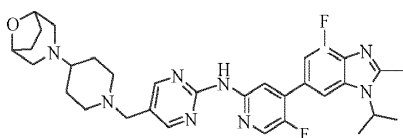


(*trans*)-6-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*][1,4]oxazin-1-carboxilato de bencilo (113 mg, 0,17 mmol) se disolvió en metanol (5 ml) y agua amoniacal (0,50 ml). Se añadió catalizador de paladio-carbón (30 mg) y se introdujo hidrógeno para llevar a cabo la reacción de reducción durante 2 h. La mezcla se filtró bajo succión, y la solución se destiló bajo rotación. El residuo se separó por cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo = 10:1-1:1) para obtener el producto (30 mg, rendimiento: 33%).

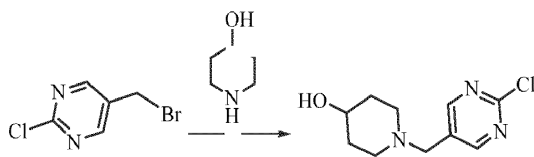
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈O Peso molecular: 534,6 LC-MS (m/z): 535,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,63-8,66 (m, 2H), 8,44 (s, 2H), 8,29 (d, *J* = 2,0Hz, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,26 (d, *J* = 8,0Hz, 1H), 4,70-4,73 (m, 1H), 3,84 (dd, *J*₁ = 2,8Hz, *J*₂ = 11,2Hz, 1H), 3,62-3,63 (m, 1H), 3,47-3,48 (m, 2H), 3,20-3,21 (m, 1H), 2,86-3,02 (m, 4H), 2,68 (s, 3H), 2,35-2,40 (m, 1H), 2,11-2,12 (m, 1H), 1,94-2,01 (m, 1H), 1,68 (d, *J* = 10,8Hz, 6H), 1,66-1,63(m, 1H), 1,55-1,45(m, 1H).

Ejemplo 10: Preparación de 5((4-(8-oxa-3-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-il)piperidin-1-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 10)

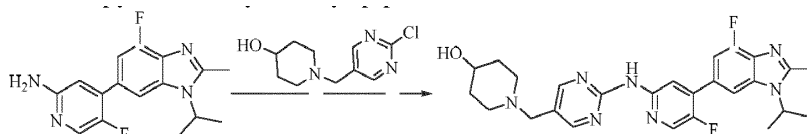


(1) Preparación de 1-((2-cloropirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ol



4-Hidroxipiperidina (202 mg, 2 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (414 mg, 2,0 mmol) se disolvieron en acetonitrilo (50 ml), y se añadió carbonato de potasio (828 mg, 6,0 mmol). La mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se filtró, y el disolvente se eliminó por destilación. El producto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (378 mg, rendimiento: 83%).

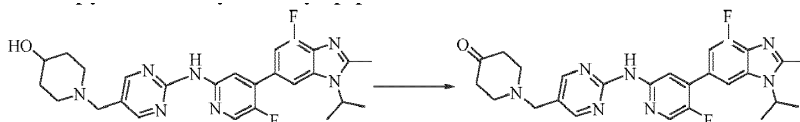
(2) Preparación de 1-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ol



1-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ol (342 mg, 1,5 mmol) y 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (453 mg, 1,5 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (50 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (137 mg, 0,15 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (143 mg, 0,3 mmol) y carbonato de cesio (1,47 g, 4,5 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110 °C y

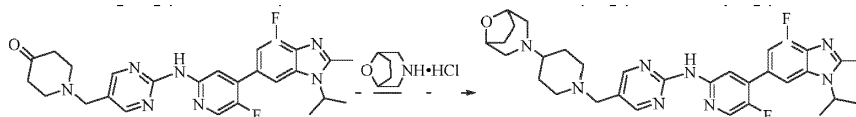
reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (100 ml) y éter acético (150 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (150 ml×2). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (489 mg, rendimiento: 66%).

(3) Preparación de 1-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ona



1-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ol (450 mg, 0,91 mmol) se disolvió en DMSO (6 ml) y trietilamina (4 ml), y trióxido de azufre y piridina (723 mg, 4,55 mmol) se añadió bajo agitación. Después de la adición, la reacción se llevó a cabo bajo agitación a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió agua (100 ml). La fase acuosa se extrajo con éter acético (50 ml×3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (363 mg, rendimiento: 81%).

(4) Preparación de 5((4-(8-oxa-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-il)piperidin-1-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

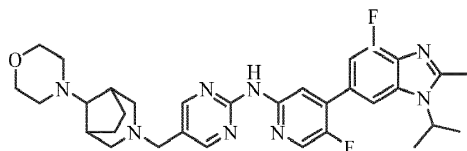


1-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)piperidin-4-ona (300 mg, 0,61 mmol) y clorhidrato de 8-oxa-3-azabicyclo[3,2,1]octano (91,3 mg, 0,61 mmol) se disolvieron en DMF (5 ml), y se añadió Tricloruro de indio (270 mg, 1,22 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se añadió cianoborohidruro de sodio (77 mg, 1,22 mmol), y la mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 2 h. Agua (20 ml) y éter acético (20 ml×5) se añadieron para la extracción. Las fases orgánicas se combinaron, se concentraron y se secaron con sulfato de sodio anhidro. El producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (133 mg, rendimiento: 37%).

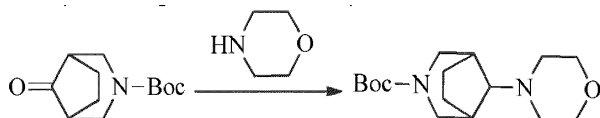
Fórmula molecular: $C_{32}H_{38}F_2N_8O$ Peso molecular: 588,7 LC-MS (m/z): 589,4(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10,01 (s, 1H), 8,43-8,42(m, 3H), 8,35(d, *J* = 2,0Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, *J*=11,6Hz, 1H), 4,79-4,83 (m, 1H), 4,10-4,17 (m, 2H), 3,44-3,49 (m, 2H), 2,81-2,87 (m, 2H), 2,65 (s, 3H), 2,22-2,24 (m, 2H), 1,99-2,06(m, 3H), 1,74-1,76 (m, 2H), 1,67-1,73 (m, 5H), 1,56-1,58 (m, 6H), 1,36-1,38 (m, 2H).

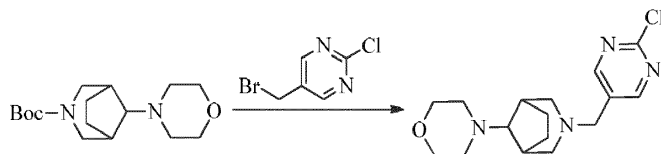
Ejemplo 11: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((8-morfolino-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 11)



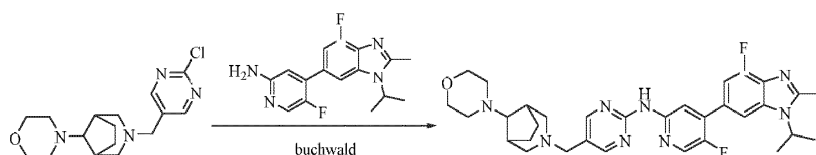
(1) Preparación de 8-mofolino-3-azabicclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo



8-oxo-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (226 mg, 1,0 mmol) y morfolina (870 mg, 10 mmol) se disolvieron en tetrahidrofurano (5 ml). Se añadió una cantidad catalítica de ácido acético (20 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió cianoborohidruro de sodio (95 mg, 1,5 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió éter acético (100 ml). La mezcla se lavó. La fase orgánica se secó, y se destiló bajo rotación para obtener el producto bruto (300 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

(2) Preparación de 4-(3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3-azabicyclo[3,2,1]octan-8-il)morfolina

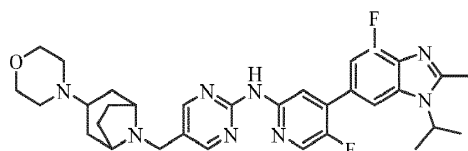
8-morfolina-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 1,0 mmol) se disolvió en una solución mixta de diclorometano (5 ml) y ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se destiló bajo rotación. Se añadieron carbonato de potasio (276 mg, 2,0 mmol), 5-bromometil-2-cloropirimidina (310 mg, 1,5 mmol), y acetonitrilo (10 ml). La mezcla se calentó en un baño de aceite a 60 °C durante 1 hora. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el producto (236 mg, rendimiento de dos etapas: 73%).

(3) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((8-morfolino-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-il)metil)pirimidin-2-amina

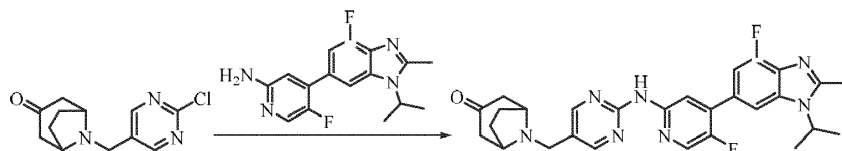
4-(3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3-azabicyclo[3,2,1]octan-8-il)morfolina (236 mg, 0,73 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (332 mg, 1,1 mmol), carbonato de potasio (202 mg, 1,5 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (24 mg), y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (48 mg) se añadieron a 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h. El disolvente se destiló bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo = 10:1-1:1) para obtener el producto (41 mg, rendimiento: 10%).

Fórmula molecular: C₃₂H₃₈F₂N₈O Peso molecular: 588,7 LC-MS (m/z): 589,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,66 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,36-8,52 (m, 3H), 8,28 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,27 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,70-4,74 (m, 1H), 3,71 (s, 4H), 2,69 (s, 5H), 2,34-2,42 (m, 6H), 2,10-2,15 (m, 3H), 1,68-1,79 (m, 8H), 1,05-1,30 (m, 4H).

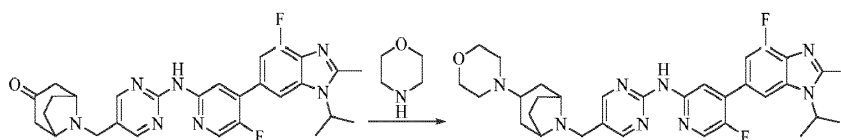
Ejemplo 12: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((3-morfolino-8-azabicyclo[3,2,1]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 12)**(1) Preparación de 8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-8-diazasiro[3,2,1]octan-3-ona**

A 20 ml acetonitrilo se añadieron 5-bromometil-2-cloropirimidina (621 mg, 3,0 mmol), clorhidrato de 3-oxo-8-azabicyclo[3,2,1]octano (324 mg, 2,0 mmol) y carbonato de potasio (552 mg, 4,0 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 h. El disolvente se destiló bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=5: 1) para obtener el producto (387 mg, rendimiento: 77%).

(2) Preparación de 8-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-8-azabicyclo[3,2,1]octan-3-ona

8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-8-azabicyclo[3,2,1]octan-3-ona (387 mg, 1,54 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (930 mg, 3,08 mmol), carbonato de potasio (638 mg, 4,62 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (39 mg), y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (78 mg) se añadieron a 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h. El disolvente se destiló bajo rotación, y el residuo se separó por cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo =10:1-1:1) para obtener el compuesto del título (133 mg, rendimiento: 17%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-((3-morfolino-8-azabicyclo[3,2,1]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina

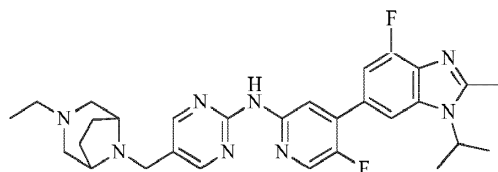


8-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-8-azabicyclo[3,2,1]octan-3-ona (133 mg, 0,257 mmol) se disolvió en un disolvente mixto de tetrahydrofurano (1 ml) y metanol (1 ml), y morfolina (223 mg, 2,57 mmol) y ácido acético (20 mg) se añadieron. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadió cianoborohidruro de sodio (25 mg, 0,386 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió éter acético (20 ml) para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de NaCl, se secó, se destiló bajo rotación, y se sometió a cromatografía preparativa (el eluyente fue agua: acetonitrilo =10:1-1:1) para separar el producto (40 mg, rendimiento:33%).

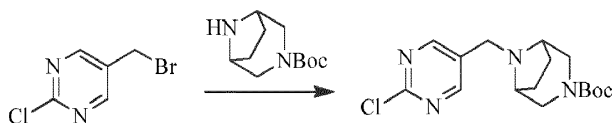
Fórmula molecular: C₃₂H₃₈F₂N₈O Peso molecular: 588,7 LC-MS (m/z): 589,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,48 (brs., 1H), 8,67 (d, *J* = 6,0Hz, 1H), 8,62(s, 2H), 8,38 (d, *J* = 2,4Hz, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,25 (d, *J* = 13,2Hz, 1H), 4,67-4,74 (m, 1H), 3,72 (s, 4H), 3,60 (s, 2H), 3,36 (s, 2H), 2,66 (s, 3H), 2,55 (brs, 5H), 2,05-2,07 (m, 2H), 1,84-1,82 (m, 2H), 1,67-1,68 (m, 10H).

Ejemplo 13: Preparación de 5-((3-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 13)



(1) Preparación de 8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo



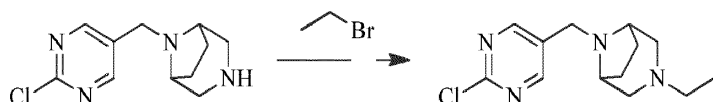
5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (412 mg, 2 mmol) se disolvió en tetrahydrofurano(30 ml), y trietilamina (606 mg, 6 mmol) y 3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (509 mg, 2,4 mmol) se añadieron bajo agitación. La reacción se llevó a cabo bajo agitación a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla resultante se filtró bajo succión, y el filtrado se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (600 mg, rendimiento: 88,8%).

(2) Preparación de 8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano



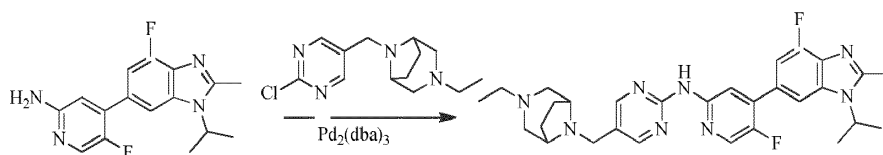
8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (600 mg, 1,78 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml), y ácido trifluoroacético (5 ml) se añadió bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente el producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (400 mg, rendimiento: 94,6%).

(3) Preparación de 8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano



8-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano (400 mg, 1,68 mmol) se disolvió en acetonitrilo (20 ml), y bromuro de etilo (363 mg, 3,36 mmol) y carbonato de potasio (695,5 mg, 5,04 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó a 40 °C durante la noche. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (380 mg, rendimiento: 85,2%).

(4) Preparación de 5-((3-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-8-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

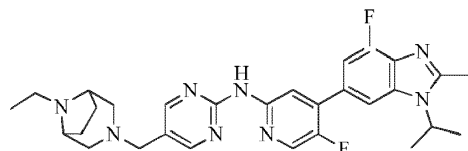


5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (200 mg, 0,66 mmol), 8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano (175,6 mg, 0,66 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenil (63 mg, 0,13 mmol), carbonato de cesio (643,5 mg, 1,98 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (60 mg, 0,066 mmol) se añadieron en un frasco de forma de berenjena, y se añadió 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró bajo succión. El filtrado se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=15:1) para obtener el compuesto del título (100 mg, rendimiento: 28,5%).

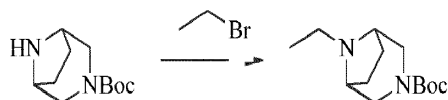
Fórmula molecular: C₂₉H₃₄F₂N₈ Peso molecular: 532,3 LC-MS (m/z): 533,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, MeOD-*d*₄) δ: 8,54-8,58(m, 3H), 8,27 (d, J=2,0Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,26 (d, J=11,6Hz, 1H), 4,84-4,88 (m, 1H), 3,37-3,60 (m, 3H), 3,00-3,21(m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,25-2,35 (m, 2H), 1,85-2,05 (m, 2H), 1,67-1,71 (m, 6H), 1,22-1,35(m,2H), 1,16-1,20(m, 4H).

Ejemplo 14: Preparación de 5-((8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2 -amina (Compuesto 14)



(1) Preparación de 8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo



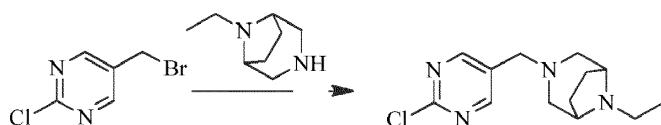
3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (212 mg, 1 mmol) se disolvió en acetonitrilo (20 ml), y bromuro de etilo (129,6 mg, 1,2 mmol) y carbonato de potasio (414 mg, 3 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó durante la noche a 40 °C. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se destiló bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (200 mg, rendimiento: 83,3%).

(2) Preparación de 8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano



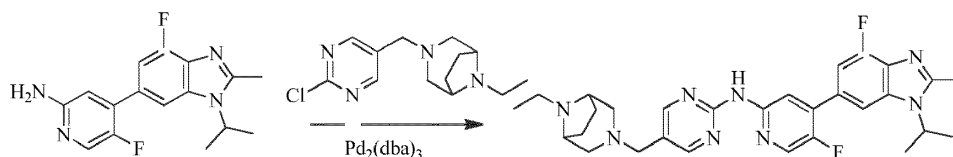
8-Etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0,83 mmol) se disolvió en diclorometano (5 ml), y ácido trifluoroacético (3 ml) se añadió bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla se destiló bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (100 mg, rendimiento: 85,8%).

(3) Preparación de 3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano



5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (146 mg, 0,71 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (30 ml), y carbonato de potasio (294 mg, 2,13 mmol) y 8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano (100 mg, 0,71 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que desapareció la materia prima según se detectó por TLC, la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (150 mg, rendimiento: 79,4%).

(4) Preparación de 5-((8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octan-3-yl)methyl)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-yl)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

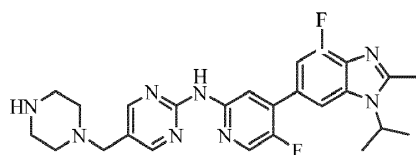


5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (170 mg, 0,564 mmol), 3-((2-cloropirimidin-5-il)methyl)-8-etil-3,8-diazabicyclo[3,2,1]octano (150 mg, 0,564 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (54 mg, 0,11 mmol), carbonato de cesio (550 mg, 1,69 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (52 mg, 0,057 mmol) se añadieron a un frasco de forma de berenjena de 100 ml, y se añadió 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110 °C durante 4 h, y la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=15:1) para obtener el compuesto del título (120 mg, rendimiento: 40%).

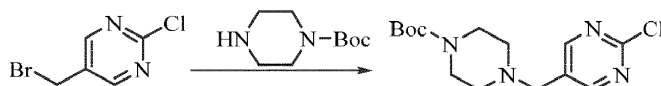
Fórmula molecular: C₂₉H₃₄F₂N₈ Peso molecular: 532,3 LC-MS (m/z): 533,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, MeOD-d₄) δ: 8,53(d, J=6,0 Hz, 1H), 8,50(s, 2H), 8,27 (d, J=2,4Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,26(d, J=11,2 Hz, 1H), 4,60(s, 1H), 3,95-4,02 (m, 2H), 3,59(s, 2H), 3,00-3,12 (m, 2H), 2,92(d, J=12,8 Hz, 2H), 2,69(s, 3H), 2,59 (d, J=12,8 Hz, 2H), 2,11-2,16 (m, 4H), 1,69 (d, J=6,8Hz, 6H), 1,31-1,35 (m, 3H).

Ejemplo 15: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-ilmetil)pirimidin-2-amina (Compuesto 15)

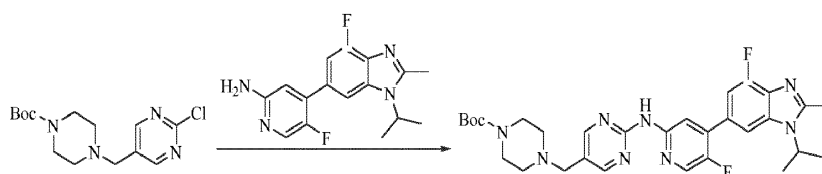


(1) Preparación de 4-(2-cloropirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



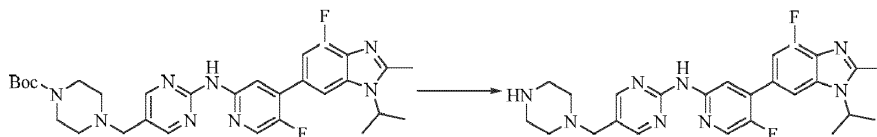
5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (500 mg, 2,42 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (15 ml), y añadieron piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (372 mg, 2 mmol) y trietilamina (404 mg, 4 mmol) se. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la reacción, la mezcla se concentró bajo presión reducida, se diluyó con agua (15 ml), y se extrajo con éter acético (20 ml×3). Las fases se separaron. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (520 mg, rendimiento: 83%).

(2) Preparación de 4-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)methyl)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (302 mg, 1 mmol) y 4-((2-cloropirimidin-5-il)metil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (312 mg, 1 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (15 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (92 mg, 0,1 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (95 mg, 0,2 mmol) y carbonato de cesio (815 mg, 2,5 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se agitó bajo reflujo durante la noche, y se filtró. El filtrado se concentró por presión reducida. El producto bruto se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (350 mg, rendimiento: 60%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-ilmetil)pirimidin-2-amina

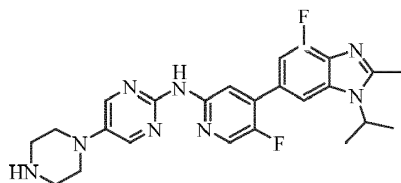


4-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0,346 mmol) se disolvió en diclorometano (5 ml), y se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró bajo presión reducida. Se añadieron diclorometano y solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio. Las fases se separaron. La fase orgánica se secó, se filtró y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (metanol: diclorometano=0-1:20, con la adición de 0,5% trietilamina) para obtener el compuesto del título como sólido blanco (110 mg, rendimiento: 67%).

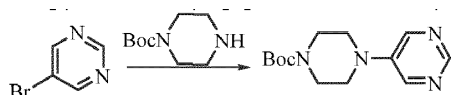
Fórmula molecular: C₂₅H₂₈F₂N₈ Peso molecular: 478,5 LC-MS (m/z): 479,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10,03 (s, 1H), 8,42-8,47 (m, 3H), 8,35 (d, *J*=2,0Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, *J*=11,6 Hz, 1H), 4,78-4,85 (m, 1H), 3,34 (s, 2H), 2,62-2,66 (m, 7H), 2,20-2,31 (m, 5H), 1,58 (d, *J*=6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 16: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 16)

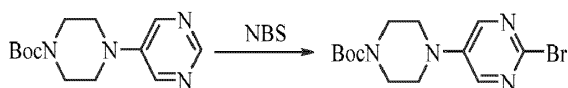


(1) Preparación de 4-(pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



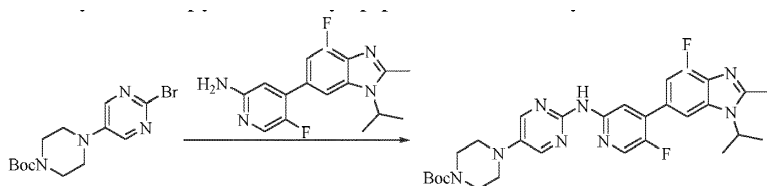
A un frasco de forma de berenjena de 100 ml se añadieron 5-bromopirimidina (3,16 g, 20 mmol), piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (3,72 g, 20 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (2,49 g, 4 mmol), carbonato de cesio (13,0 g, 40 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (1,83 g, 2 mmol); y se añadió tolueno (80 ml). La reacción se llevó a cabo a 90 °C bajo la protección de nitrógeno durante 12 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (3,1 g, rendimiento: 58,7%).

(2) Preparación de 4-(2-bromopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



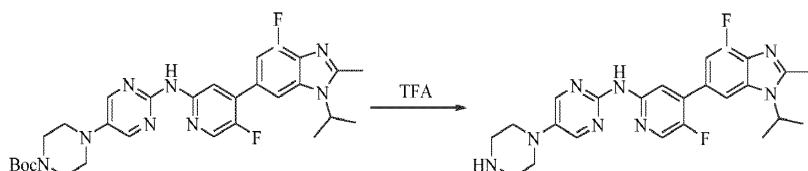
4-(Pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (2,64 g, 10 mmol) se pesó y se añadió a acetonitrilo (125 ml). *N*-bromobutanamida (1,78 g, 10 mmol) se añadió bajo agitación, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 16 h. La solución de reacción se concentró. Éter acético (100 ml) y agua (100 ml) se añadieron para separar las fases. La fase orgánica se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (40 mg, rendimiento: 1,17%).

(3) Preparación de 4-(2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (36 mg, 0,12 mmol), 4-(2-bromopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (40 mg, 0,12 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (11,4 mg, 0,024 mmol), carbonato de cesio (97,7 mg, 0,3 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (11 mg, 0,012 mmol) se añadieron a un frasco de forma de berenjena de 25 ml, y se añadió 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110 °C durante 2 h, y la mezcla resultante se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (15 mg, rendimiento: 22,2%).

(4) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-il)pirimidin-2-amina

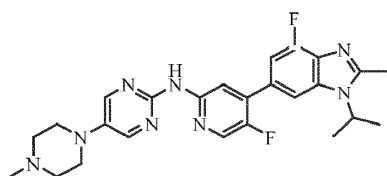


4-(2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (15 mg, 0,027 mmol) se disolvió en diclorometano (2 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (2 ml) bajo agitación. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La solución de reacción se concentró, y el residuo se diluyó con éter acético (10 ml). Se introdujo gas de amoníaco hasta que la solución estuvo alcalina. La solución se concentró, y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (7 mg, rendimiento: 56,0%).

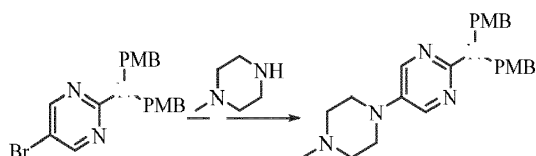
Fórmula molecular: $C_{24}H_{26}F_2N_8$ Peso molecular: 464,5 LC-MS (m/z): 465,4($M+H^+$)

1H -RMN (400 MHz, $MeOD-d_4$) δ : 8,77 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,31 (d, $J=2,8$ Hz, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,30 (d, $J=11,2$ Hz, 1H), 4,86-4,93 (m, 1H), 3,16-3,18 (m, 4H), 3,04-3,06 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 1,70 (d, $J=6,8$ Hz, 6H).

Ejemplo 17: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 17)

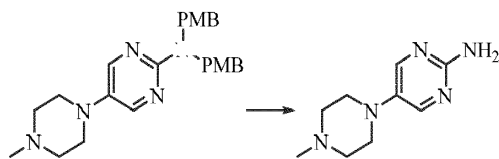


(1) Preparación de N,N-bis(4-metoxibencil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina



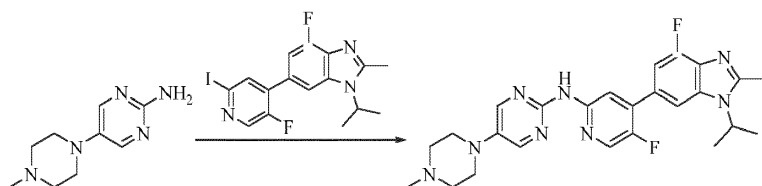
5-Bromo-N,N-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina (2,0 g, 4,83 mmol) se disolvió en tolueno (20 ml), y se añadieron N-metilpiperazina (483 mg, 4,83 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (221 mg, 0,24 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (301 mg, 0,48 mmol) y terc-butoxido de sodio (930 mg, 9,7 mmol). Se introdujo nitrógeno para reemplazar el aire en el sistema, y la reacción se llevó a cabo bajo agitación a 80 °C durante 18 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró. El filtrado se concentró, y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (859 mg, 41%).

(2) Preparación de 5-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina



N,N-bis(4-metoxibencil)-5-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina (800 mg, 1,8 mmol) se disolvió en una solución mixta de ácido trifluoroacético (10 ml) y diclorometano (10 ml). La mezcla se calentó a 40 °C, y reaccionó durante 18 h. La solución de reacción se concentró bajo presión reducida y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (285 mg, 82%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(4-metilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina

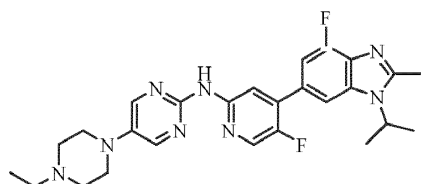


5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)pirimidin-2-amina (193 mg, 1,0 mmol), 4-fluoro-6-(5-fluoro-2-yodopiridin-4-il)-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol (413 mg, 1,0 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (47,7 mg, 0,10 mmol), carbonato de cesio (815 mg, 2,5 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (45,8 mg, 0,05 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (20 ml). Se introdujo nitrógeno para reemplazar el aire en el sistema de reacción. La mezcla se calentó hasta 120 °C, reaccionó durante 8 h, y se filtró. El filtrado se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (52,6 mg, rendimiento: 11%).

Fórmula molecular: C₂₅H₂₈F₂N₈ Peso molecular: 478,6 LC-MS (m/z): 479,0(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9,66 (s, 1H), 8,36 (d, *J*=6Hz, 1H), 8,29-8,31 (m, 3H), 7,73 (s, 1H), 7,20 (d, *J*=11,6Hz, 1H), 4,79-4,83 (m, 1H), 3,07-3,10 (m, 4H), 2,61(s, 3H), 2,43-2,46 (m, 4H), 2,20 (s, 3H), 1,57 (d, *J*=6,8Hz, 6H).

Ejemplo 18: Preparación de 5-(4-etilpiperazin-1-il)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 18)

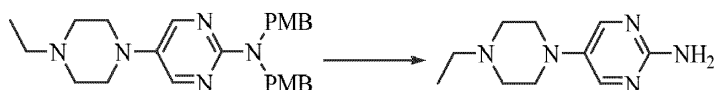


(1) Preparación de 5-(4-etilpiperazin-1-il)-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina



5-Bromo-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina (800 mg, 1,94 mmol) se disolvió en tolueno (20 ml), y se añadieron *N*-etilpiperazina (330 mg, 2,89 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (89 mg, 0,097 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (121 mg, 0,194 mmol) y terc-butóxido de sodio (372 mg, 3,88 mmol). La mezcla se agitó a 80°C bajo la protección de nitrógeno durante 18 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró. El filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (metanol:diclorometano=0-1:30) para obtener el producto del título (440 mg, rendimiento:51%).

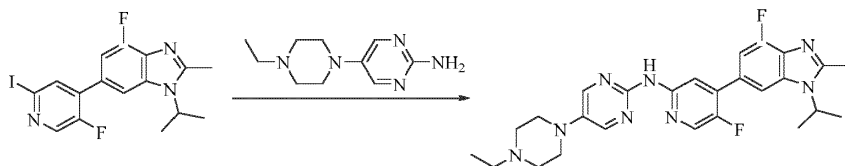
(2) Preparación de 5-(4-etilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina



5-(4-Etilpiperazin-1-il)-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina (440 mg, 0,98 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (5 ml). La mezcla se calentó a 40°C y reaccionó durante 18 h. El disolvente se eliminó bajo presión

reducida para obtener el compuesto del título (180 mg, rendimiento: 89%), que se usó directamente en la etapa siguiente.

(3) Preparación de 5-(4-etilpiperazin-1-il)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

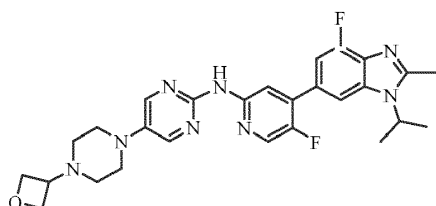


4-Fluoro-6-(5-fluoro-2-yodopiridin-4-il)1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (359 mg, 0,87 mmol) y 5-(4-etilpiperazin-1-il)pirimidin-2-amina (180 mg, 0,87 mmol) se disolvieron en tolueno (10 ml). Se añadieron Tris(dibencilidenacetona)dipaladio(80 mg, 0,087 mmol), 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (50 mg, 0,087 mmol) y terc-butoxido de sodio (209 mg, 2,18 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 100°C y reaccionó durante 16 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se añadió metanol (5 ml). La mezcla se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (metanol: diclorometano=0-1:10, con la adición de amoníaco acuoso 0,5%) para obtener el compuesto del título como sólido blanco (18 mg, rendimiento: 4,2%).

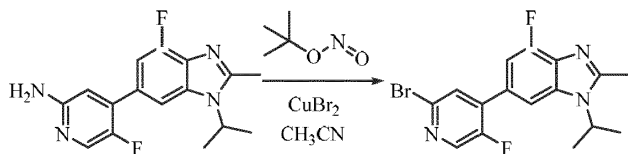
Fórmula molecular: $C_{26}H_{30}F_2N_8$ Peso molecular: 492,6 LC-MS (m/z): 493(M+H⁺)

¹H-RMN(400MHz, MeOD-d₄) δ: 8,46 (d, J=5,2 Hz, 1H), 8,34 (s, 2H), 8,22 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,25 (d, J=11,2 Hz, 1H), 4,55-4,62 (m, 1H), 3,20-3,28 (m, 4H), 2,80-2,91 (m, 4H), 2,72-2,75 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 1,69 (d, J=6,8 Hz, 6H), 1,22 (t, J=7,2 Hz, 3H).

Ejemplo 19: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(4-(oxaciclobutan-3-il)piperazin-1-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 20)

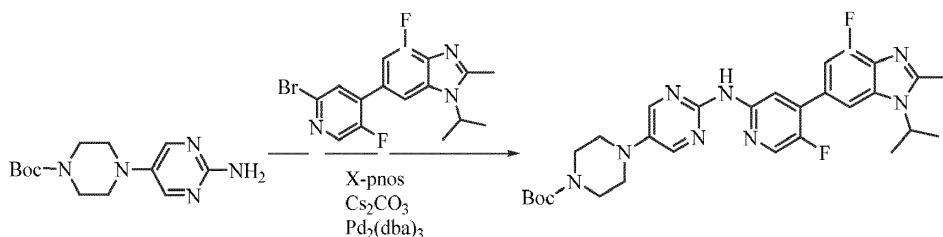


(1) Preparación de 6-(2-bromo-5-fluoropiridin-4-il)-4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol



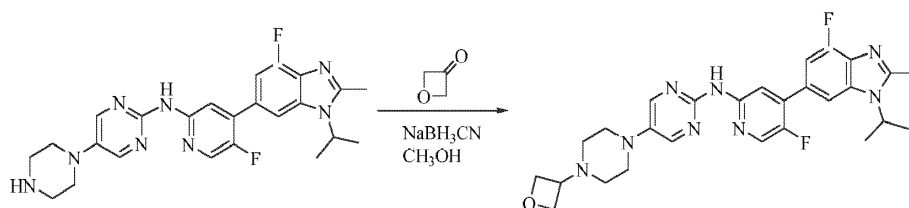
5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (906 mg, 3,0 mmol) se disolvió en acetonitrilo (30 ml), y nitrito de terc-butilo (340 mg, 3,3 mmol) se añadió lentamente. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, y se añadió CuBr₂ (1,00 g, 4,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se filtró bajo succión. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el producto (498 mg, rendimiento: 45,4%).

(2) Preparación de 4-(2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



4-(2-aminopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (380 mg, 1,36 mmol), 6-(2-bromo-5-fluoropiridin-4-il)-4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol (498 mg, 1,36 mmol), carbonato de cesio (447 mg, 1,36 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (38 mg) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (76 mg) se añadieron a 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h, y el disolvente se eliminó por destilación bajo rotación. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético= 10:1-1:1) para obtener el compuesto del título (256 mg, rendimiento: 33,3%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(4-(oxaciclobutan-3-il)piperazin-1-il)pirimidin-2-amina

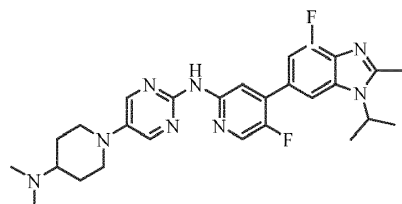


N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-il)pirimidin-2-amina (170 mg, 0,366 mmol) se disolvió en metanol (5 ml), y 3-oxetanona (39,5 mg, 0,549 mmol) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se añadió lentamente cianoborohidruro de sodio (34,6 mg, 0,549 mmol). La mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó por destilación bajo rotación, y el residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (82 mg, rendimiento: 42,1%).

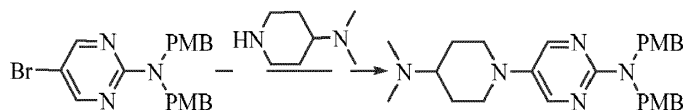
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈O Peso molecular: 520,6 LC-MS (m/z): 521,3(M+H⁺)

¹H-RMN(400 MHz, MeOD) δ: 8,47 (m, *J* = 6,4 Hz, 1H), 8,30 (s, 2H), 8,20 (d, *J* = 2,4Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,26 (d, *J* = 8,0Hz, 1H), 4,72 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,59-4,64 (m, 3H), 3,50-3,55 (m, 1H), 3,19 (t, *J* = 4,8 Hz, 4H), 2,68 (s, 3H), 2,52 (t, *J* = 4,8 Hz, 4H), 1,68 (d, *J* = 6,8Hz, 6H).

Ejemplo 20: Preparación de 5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 21)



(1) Preparación de 5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina

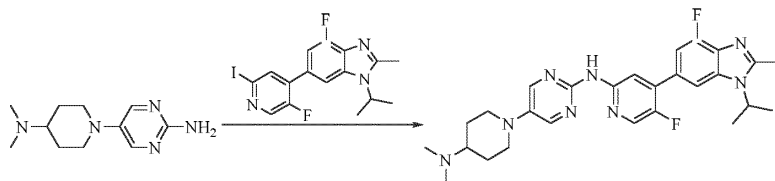


Bajo la protección de nitrógeno, al tolueno (50 ml) el frasco de reacción se añadieron 5-bromo-*N,N*-bis(4-metoxibencil)-pirimidin-2-amina (2,0 g, 4,84 mmol), *N,N*-dimetilpiperidin-4-amina (620 mg, 4,84 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (221 mg, 0,24 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (301 mg, 0,48 mmol) y terc-butoxido de sodio (930 mg, 9,7 mmol). La mezcla se calentó a 80 °C, y reaccionó durante 16 h. Después de la reacción, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró, y el filtrado se concentró y separó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=5:1) para obtener el compuesto del título (758 mg, 34%).

(2) Preparación de 5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)piperimidin-2-amina



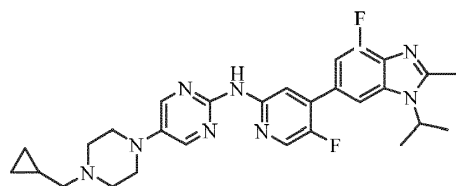
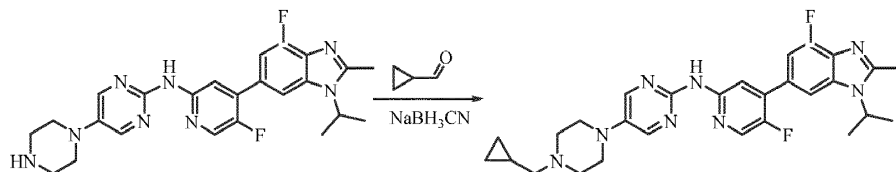
A una solución de 5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)-*N,N*-bis(4-metoxibencil)pirimidin-2-amina (758 mg, 1,64 mmol) en diclorometano (20 ml), se añadió ácido trifluoroacético (10 ml). La mezcla se calentó a 40 °C y reaccionó durante 16 h. Después de la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (282 mg, 78%).

(3) Preparación de 5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)pirimidin-2-il)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

5-(4-(dimetilamino)piperidin-1-il)pirimidin-2-amina (282 mg, 1,28 mmol), 4-fluoro-6-(5-fluoro-2-yodopiridin-4-il)-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (528 mg, 1,28 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (61 mg, 0,13 mmol), carbonato de cesio (1,2 g, 3,7 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (58 mg, 0,06 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (20 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 120 °C durante 2 h, y se filtró bajo succión. El filtrado se concentró y se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (40 mg, rendimiento: 6%).

Fórmula molecular: C₂₇H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 506,6 LC-MS (m/z): 507,1(M+H⁺)

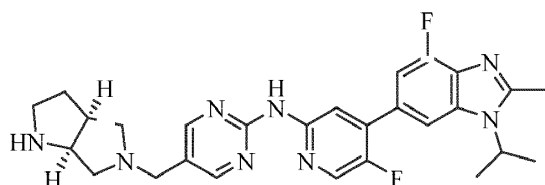
¹H-RMN(400 MHz, MeOD) δ: 8,46 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,34 (s, 2H), 8,21 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,25 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,57 (s, 1H), 3,71-3,76 (m, 2H), 2,96-3,11 (m, 1H), 2,77-2,83 (m, 2H), 2,72 (s, 6H), 2,68 (s, 3H), 2,11-2,14 (m, 2H), 1,78-1,82 (m, 2H), 1,69 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

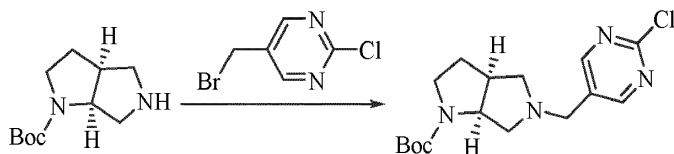
Ejemplo 21: Preparación de 5-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 22)**(1) Preparación de 5-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina**

N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(piperazin-1-il)pirimidin-2-amina (90 mg, 0,194 mmol) se disolvió en metanol (5 ml), y se añadió ciclopropanocarboxaldehído (68 mg, 0,97 mmol). La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 min. Se añadió cianoborohidruro de sodio (122 mg, 1,94 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. Agua (10 ml) y éter acético (20 ml) se añadieron para separar las fases. La fase orgánica se concentró, y se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10: 1) para obtener el compuesto del título (19 mg, rendimiento: 18,9%).

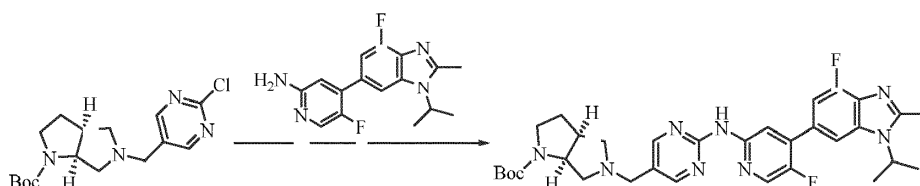
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,2(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, MeOD) δ: 8,41 (s, 1H), 8,09-8,20 (m, 3H), 7,74 (s, 1H), 7,17-7,19 (m, 1H), 4,89-4,91(m, 1H), 2,95-3,15 (m, 4H), 2,68 (s, 3H), 2,52-2,68 (m, 4H), 2,26-2,29 (m, 2H), 1,67 (d, J = 6,8Hz, 6H), 1,29-1,31 (m, 1H), 0,55-0,57 (m, 2H), 0,21-0,29 (m, 2H).

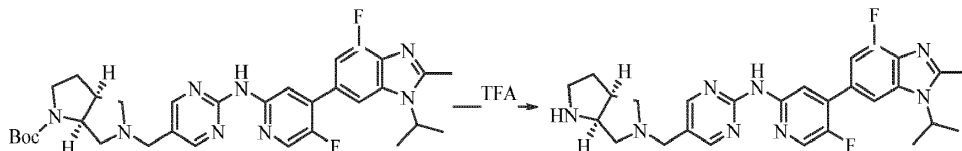
Ejemplo 22: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-5(1H)-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 23)

(1) Preparación de (cis)-5-((2-cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-1(2H)-carboxilato de terc-butilo

(cis)-Hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-1(2H)-carboxilato de terc-butilo (250 mg, 1,18 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (490 mg, 2,37 mmol) se pesaron y añadieron al tetrahidrofurano (10 ml), y se añadió trietilamina (238 mg, 2,36 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla resultante se concentró directamente. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=3:1) para obtener el compuesto del título (300 mg, rendimiento: 75,2%).

(2) Preparación de (cis)-5-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-1(2H)-carboxilato de terc-butilo

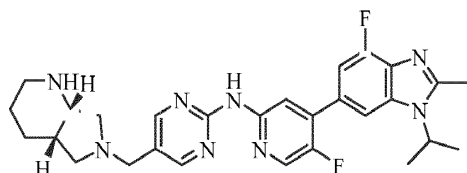
(cis)-5-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-1(2H)-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 0,89 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (269 mg, 0,89 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (87 mg, 0,18 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (82 mg, 0,09 mmol) y carbonato de cesio (587 mg, 1,8 mmol) se pesaron y añadieron al 1,4-dioxano (5 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó hasta 110°C y reaccionó durante 16 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (370 mg, rendimiento: 68,7%).

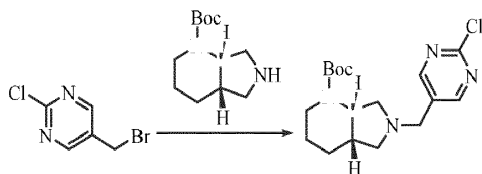
(3) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-5(1H)-il)metil)pirimidin-2-amina

(cis)-5-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-1(2H)-carboxilato de terc-butilo (370 mg, 0,61 mmol) se pesó y se disolvió en diclorometano (8 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) bajo la condición de baño de hielo. La mezcla posteriormente se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La solución de reacción se destiló bajo rotación, se disolvió en diclorometano (10 ml), se neutralizó con hidrógeno carbonato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=15:1) para obtener el compuesto del título (250 mg, rendimiento: 81,2%).

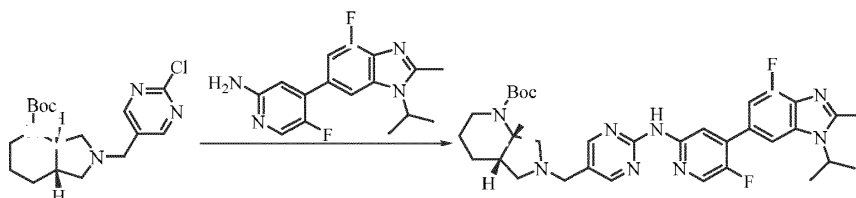
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,6 LC-MS (m/z): 505,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, MeOD-d₄) δ: 8,51-8,54 (m, 3H), 8,28 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,27 (d, J=11,2 Hz, 1H), 4,85-4,95 (m, 1H), 4,12-4,18 (m, 1H), 3,58 (s, 2H), 3,35-3,42 (m, 1H), 3,16-3,27 (m, 1H), 3,08-3,15 (m, 1H), 2,96-3,05 (m, 1H), 2,77-2,83 (m, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,40-2,55 (m, 2H), 2,15-2,28 (m, 1H), 1,85-1,95 (m, 1H), 1,69 (d, J=7,2 Hz, 6H).

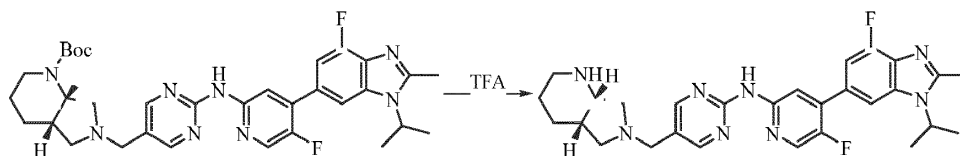
Ejemplo 23: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-octahidro-6H-pirrol[3,4-b]piridin-6-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 24)

(1) Preparación de (cis)-6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo

5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (183,4 mg, 0,884 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml), y trietilamina (134,3 mg, 1,33 mmol) y (cis)-octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,442 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se filtró bajo succión. El filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=100:1) para obtener el compuesto del título (102 mg, rendimiento: 65,4%).

(2) Preparación de (cis)-6-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo

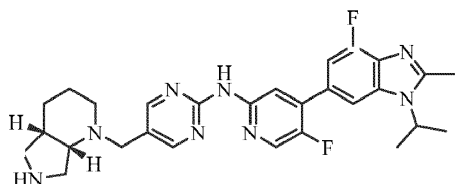
5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (85,6 mg, 0,283 mmol), (cis)-6-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,283 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (27 mg, 0,0566 mmol), carbonato de cesio (276,6 mg, 0,849 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (25,9 mg, 0,0283 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110°C durante 6 h, y la mezcla se filtró bajo succión. El filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (80 mg, rendimiento: 45,6%).

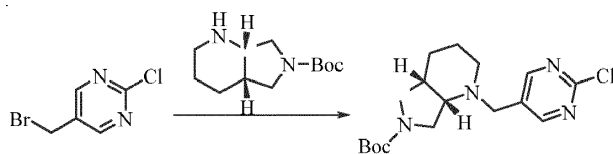
(3) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-octahidro-6H-pirrolo[3,4-b]piridin-6-il)metil)pirimidin-2-amina

(cis)-6-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (80 mg, 0,129 mmol) se disolvió en diclorometano (5 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la reacción, la mezcla se lavó con solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio y se separó en fase orgánica y fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. El producto bruto se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título como sólido blanco (30 mg, rendimiento: 44,8%).

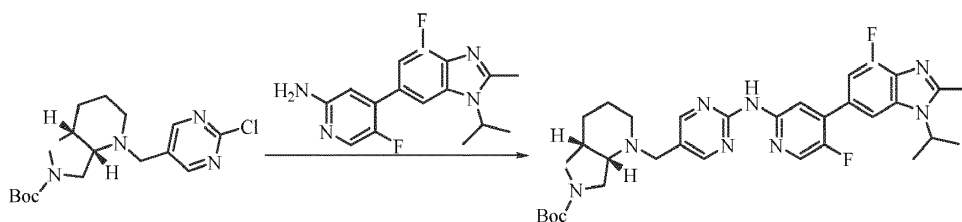
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ: 9,31 (s, 1H), 8,66 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,55 (s, 2H), 8,37 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,24-7,26 (m, 1H), 4,65-4,75 (m, 1H), 3,71 (s, 2H), 3,22-3,25 (m, 1H), 2,84-2,94 (m, 3H), 2,68-2,72 (m, 6H), 2,39-2,48 (m, 1H), 1,58-1,73 (m, 11H).

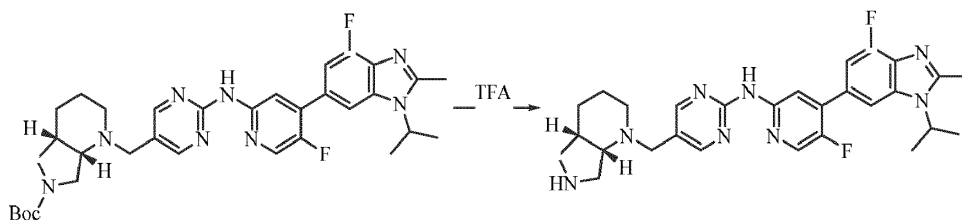
Ejemplo 24: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-1-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 25)

(1) Preparación de (cis)-1-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridina-6-carboxilato de terc-butilo

5-(Bromometil)-2-cloropirimidina (183,4 mg, 0,884 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml), y trietilamina (134,3 mg, 1,33 mmol) y (cis)-octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,442 mmol) se añadieron bajo agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=100:1) para obtener el compuesto del título (125 mg, rendimiento: 80,1%).

(2) Preparación de (cis)-1-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridina-6-carboxilato de terc-butilo

5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (85,6 mg, 0,283 mmol), (cis)-1-((2-cloropirimidin-5-il)metil)octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,283 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (27 mg, 0,0566 mmol), carbonato de cesio (276,6 mg, 0,849 mmol) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (25,9 mg, 0,0283 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la reacción se llevó a cabo a 110°C durante 6 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (95 mg, rendimiento: 54,2%).

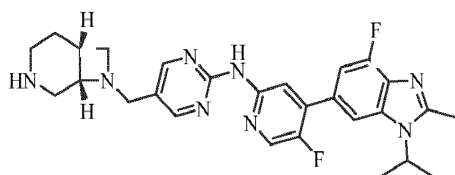
(3) Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((cis)-octahidro-1H-pirrollo[3,4-b]piridin-1-il)metil)pirimidin-2-amina

(cis)-1-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (95 mg, 0,154 mmol) se disolvió en diclorometano (5 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la reacción, la mezcla se lavó con solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, y se concentró. El producto bruto se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título como sólido blanco (40 mg, rendimiento: 50,3%).

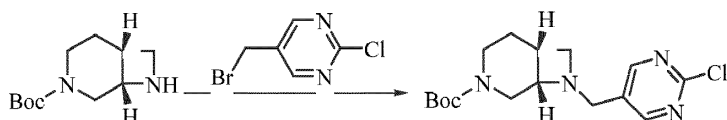
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ: 10,30 (s, 1H), 8,69 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,62 (s, 2H), 8,49 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,25 (d, J=10,8 Hz, 1H), 4,68-4,75 (m, 1H), 3,81-3,92 (m, 2H), 3,27-3,41 (m, 3H), 3,09 (d, J=13,6 Hz, 1H), 2,92 (s, 1H), 2,84 (d, J=10,8 Hz, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,48-2,55 (m, 1H), 1,95-2,01 (m, 1H), 1,48-1,72 (m, 10H).

Ejemplo 25: Preparación de 5-(((1S,6R)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 26)

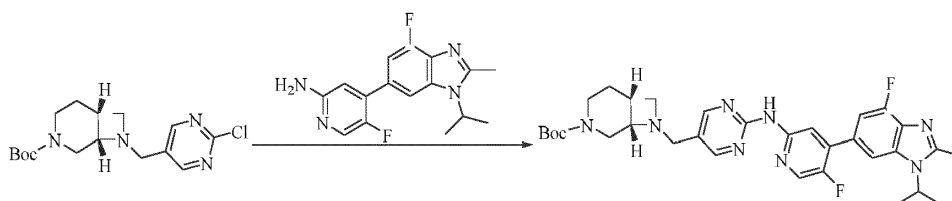


(1) Preparación de (1S,6R)-8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



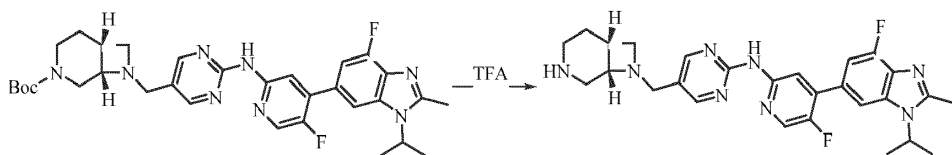
5 (1S,6R)-3,8-Diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (240 mg, 1,13 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (352 mg, 1,70 mmol) se añadieron a tetrahidrofurano (20 ml), y se añadió trietilamina (228 mg, 2,26 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se concentró directamente y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título (310 mg, rendimiento: 81,0%).

(2) Preparación de (1S,6R)-8-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



15 (1S,6R)-8-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (310 mg, 0,91 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (275 mg, 0,91 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (86 mg, 0,18 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (82 mg, 0,09 mmol) y carbonato de cesio (743 mg, 2,28 mmol) se pesaron y se añadieron a 1,4-dioxano (40 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó hasta 110°C y reaccionó durante 16 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (340 mg, rendimiento: 61,8%).

(3) Preparación de 5-(((1S,6R)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina



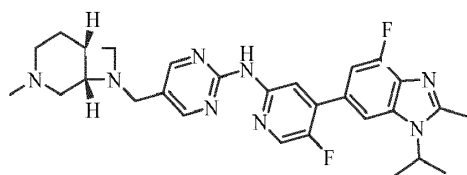
25 (1S, 6R)-8-((2-(5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (340 mg, 0,56 mmol) se pesó, y añadió a diclorometano (8 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (6 ml) bajo la condición de baño de hielo. Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La solución de reacción se concentró, se disolvió en diclorometano (10 ml), se neutralizó con hidrógeno carbonato de sodio y se concentró. El producto bruto se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (260 mg, rendimiento: 92,1%).

30 Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,6 LC-MS (*m/z*): 505,3(M+H⁺)

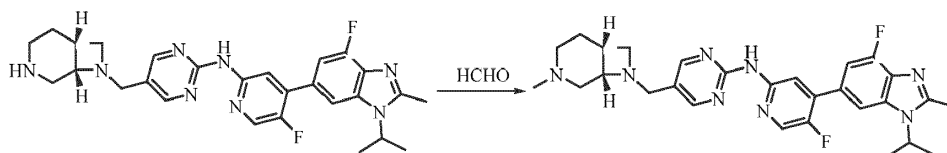
¹H-RMN (400MHz, MeOD-*d*₄) δ: 8,54 (d, *J*=6,4Hz, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,27 (d, *J*=2,4Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,24 (d, *J*=11,2Hz, 1H), 4,87-4,92 (m, 1H), 3,76 (d, *J*=13,2Hz, 1H), 3,38-3,47 (m, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,18 (d, *J*=14,0Hz, 1H), 2,91-3,07 (m, 3H), 2,84-2,88 (m, 1H), 2,48-2,52 (m, 1H), 2,17-2,21 (m, 1H), 2,01-2,07 (m, 1H), 1,69 (d, *J*=6,8Hz, 6H).

Ejemplo 26: Preparación de N-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1S,6R)-3-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 27)

35



Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*S*,6*R*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina

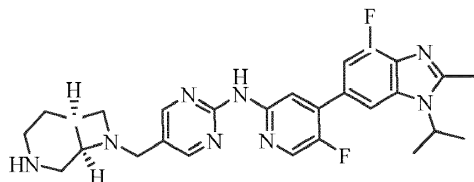


- 5-(((1*S*,6*R*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (100 mg, 0,20 mmol) se añadió a metanol (4 ml). Bajo la condición de baño de hielo, se añadieron solución acuosa de formaldehído (0,5 ml, 37%) y cianoborohidruro de sodio (100 mg, 1,6 mmol). Después de la adición, la mezcla se calentó a la temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La solución de reacción se sometió a cromatografía de capa fina preparativa (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (70 mg, rendimiento: 68,1%).

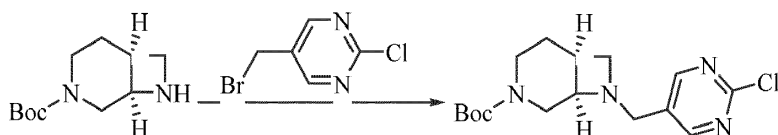
Fórmula molecular: $C_{28}H_{32}F_2N_8$ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,3($M+H^+$)

1H -RMN (400MHz, MeOD- d_4) δ : 8,55 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,25 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,27 (d, $J=11,6$ Hz, 1H), 4,85-4,89 (m, 1H), 3,68 (d, $J=12,8$ Hz, 1H), 3,39 (d, $J=13,2$ Hz, 1H), 3,23-3,28 (m, 1H), 2,91-2,93 (m, 2H), 2,78 (d, $J=12,4$ Hz, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17-2,25 (m, 1H), 1,96-2,02 (m, 3H), 1,88-1,95 (m, 1H), 1,69 (d, $J=7,2$ Hz, 6H).

Ejemplo 27: Preparación de 5-(((1*R*,6*S*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 28)

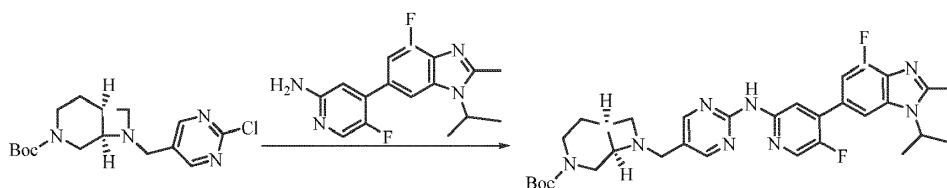


- (1) Preparación de (1*R*,6*S*)-8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo**



- (1*R*,6*S*)-3,8-Diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0,94 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (390 mg, 1,88 mmol) se añadieron a tetrahidrofurano (10 ml), y se añadió trietilamina (285 mg, 2,82 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, y se concentró directamente. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=3:1) para obtener el compuesto del título (195 mg, rendimiento: 61,7%).

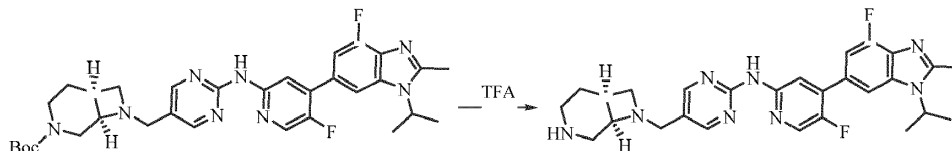
(2) Preparación de (1*R*,6*S*)-8-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



- (1*R*,6*S*)-8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,30 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (90 mg, 0,30 mmol), 2-

diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (30 mg, 0,06 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (28 mg, 0,03 mmol) y carbonato de cesio (295 mg, 0,91 mmol) se pesaron y se añadieron a 1,4-dioxano (5 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó hasta 110 °C y reaccionó durante 16 h. La mezcla se filtró bajo succión, el filtrado se concentró, y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (104 mg, rendimiento: 56,7%).

(3) Preparación de 5-(((1*R*,6*S*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

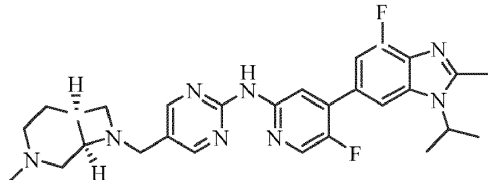


(1*R*,6*S*)-8-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (104 mg, 0,17 mmol) se pesó, y se añadió a diclorometano (8 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) bajo la condición de baño de hielo. Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La solución de reacción se destiló bajo rotación, se disolvió en diclorometano (10 ml), se neutralizó con hidrógeno carbonato de sodio y se concentró. El producto bruto se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=15:1) para obtener el compuesto del título (44 mg, rendimiento: 52,9%).

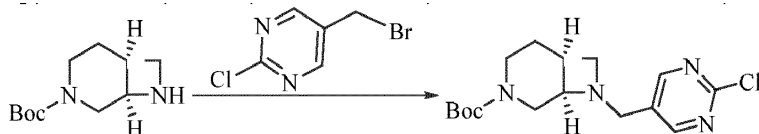
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,6 LC-MS (m/z): 505,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ: 8,64 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,44 (s, 2H), 8,23 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,26-7,29 (m, 1H), 4,68-4,83 (m, 1H), 3,60-3,63 (m, 1H), 3,31-3,40 (m, 1H), 2,95-3,09 (m, 3H), 2,83-2,93 (m, 1H), 2,75-2,80 (m, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,60-2,65 (m, 1H), 2,20-2,40 (m, 2H), 1,85-2,05 (m, 2H), 1,69 (d, J=6,8Hz, 6H).

Ejemplo 28: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*R*,6*S*)-3-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 29)

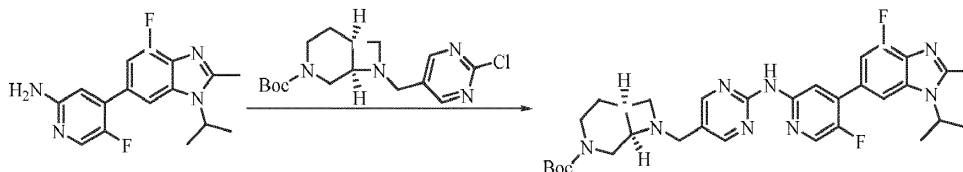


(1) Preparación de (1*R*,6*S*)-8-(2-cloropiridin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



(1*R*,6*S*)-3,8-Diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,47 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropiridina (97,5 mg, 0,47 mmol) se disolvieron en tetrahidrofurano anhidro (10 ml), y trietilamina (71,2 mg, 0,71 mmol) se añadió gota a gota. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=30:1) para obtener el compuesto del título (97,3 mg, rendimiento: 61%).

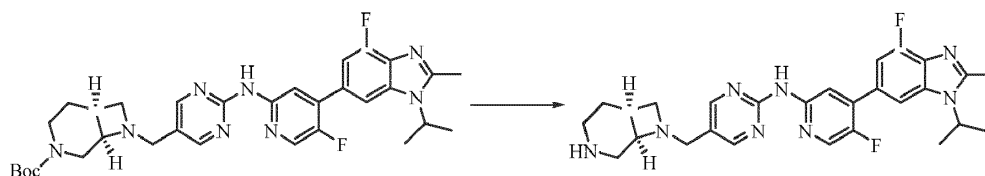
(2) Preparación de (1*R*,6*S*)-8-((2-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (84,6 mg, 0,28 mmol) y (1*R*,6*S*)-8-((2-cloropiridin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (95 mg, 0,28 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (15 ml), y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (25,6 mg, 0,028 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (26,7 mg, 0,056 mmol) y carbonato de cesio (273,7 mg, 0,84 mmol) se añadieron. Bajo la

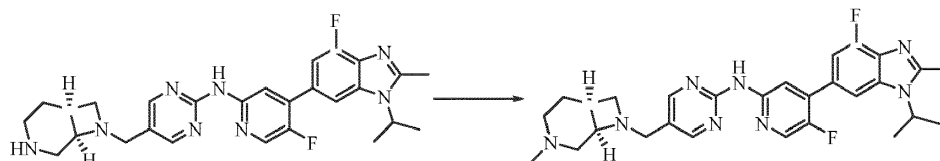
protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110°C y reaccionó durante 8 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. Agua (30 ml) y éter acético (50 ml) se añadieron para separar la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con éter acético (50 ml×2), y las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (el eluyente fue diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título (88,2 mg, rendimiento: 52%).

(3) Preparación de 5-(((1*R*,6*S*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina



(1*R*,6*S*)-8-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (88 mg, 0,146 mmol) se añadió a diclorometano (5 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se ajustó por solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio a pH=8, y se extrajo con una solución mixta de diclorometano: metanol (10:1) (20 ml×3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron por sulfato de sodio anhidro, y se concentró para obtener el compuesto del título (100 mg producto bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

(4) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*R*,6*S*)-3-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina

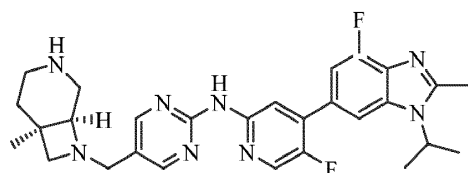


5-(((1*R*,6*S*)-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (100 mg producto bruto) se disolvió en metanol (5 ml), y se añadió solución acuosa de formaldehído (37%, 118 mg, 1,46 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se llevó a cabo durante 2 h, y se añadió cianoborohidruro de sodio (91,7 g, 1,46 mmol) a la solución y además se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la reacción, éter de petróleo (50 ml) se añadió a la solución de reacción, y la solución se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (20 mg, rendimiento de dos etapas: 26,4%).

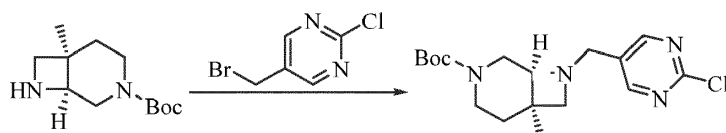
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ: 8,55 (d, *J*=6,0 Hz, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,27 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,25 (d, *J*=11,2 Hz, 1H), 4,86-4,92 (m, 1H), 3,68 (d, *J*=13,2 Hz, 1H), 3,37 (d, *J*=13,2 Hz, 1H), 3,27-3,31 (m, 1H), 2,89-2,95 (m, 2H), 2,85 (d, *J*=11,6 Hz, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,23-2,25 (m, 1H), 2,01-2,07 (m, 5H), 1,69 (d, *J*=6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 29: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 30)

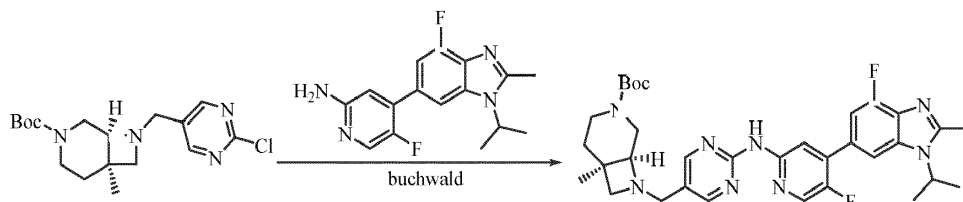


(1) Preparación de (*cis*)-8-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



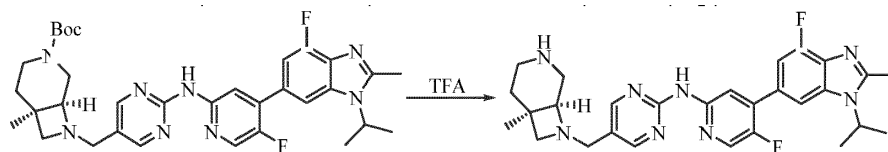
Trietilamina (336 mg, 3,33 mmol) se añadió a una solución de (*cis*)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de *tert*-butilo (250 mg, 1,11 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (660 mg, 3,19 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h. Después de la reacción, la mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó por cromatografía en columna (éter de petróleo: éter acético=2:1) para obtener el producto (200 mg, rendimiento: 51,2%).

(2) Preparación de (*cis*)-8-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de *tert*-butilo



(*cis*)-8-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de *tert*-butilo (200 mg, 0,57 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (206 mg, 0,68 mmol), carbonato de cesio (370 mg, 1,14 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (26 mg, 0,029 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (27 mg, 0,057 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (5 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó en un baño de aceite 110 °C durante 8 h. Después de la reacción, la solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (50 mg, rendimiento: 14,2%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-8-il)metil)pirimidin-2-amina

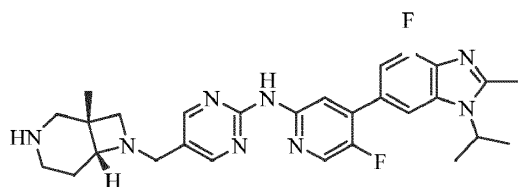


(*cis*)-8-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,8-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de *tert*-butilo (50 mg, 0,08 mmol) se añadió a diclorometano (5 ml). Ácido trifluoroacético (3 ml) se añadió gota a gota al sistema de reacción. La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h. Después de la reacción, la solución de reacción se concentró bajo presión reducida, el residuo se disolvió en diclorometano, y trietilamina (2 ml) se añadió gota a gota. Después de la concentración adicional por destilación a presión reducida, el residuo se separó por cromatografía en columna (diclorometano: metanol=5:1) para obtener el producto (12 mg, rendimiento: 28,6%).

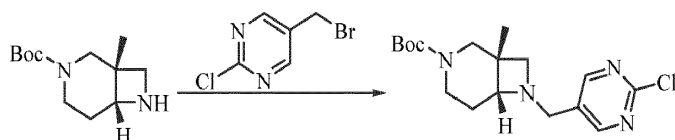
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,6 LC-MS (m/z): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN(400 MHz, MeOD) δ: 8,52 (brs, 3H), 8,27 (brs, 1H), 7,79 (brs, 1H), 7,27 (brs, 1H), 4,60-4,68 (m, 1H), 3,73-3,81 (m, 1H), 3,43-3,46 (m, 1H), 3,06-3,14 (m, 3H), 2,90-3,03 (m, 2H), 2,68-2,73 (m, 4H), 2,19 (m, 1H), 1,82-1,85 (m, 1H), 1,69 (s, 6H), 0,80-0,90 (m, 2H).

Ejemplo 30: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-7-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 31)

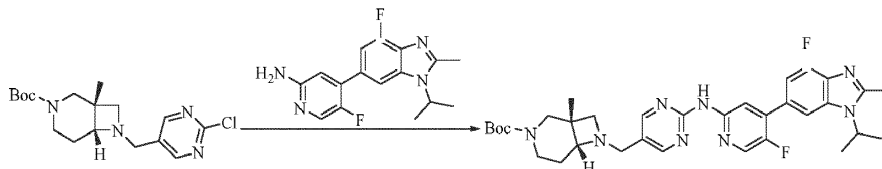


(1) Preparación de (*cis*)-7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de *tert*-butilo



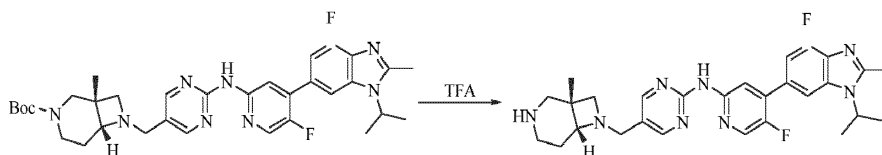
(*cis*)-1-Metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (0,12 g, 0,53 mmol) y trietilamina (0,11 g, 1,09 mmol) se disolvieron en tetrahidrofurano (5 ml), y se añadió 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (0,13 g, 0,63 mmol). La reacción se llevó a cabo bajo agitación a 25 °C durante 18 h. La solución de reacción se concentró, y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=5:1) para obtener el compuesto del título como sólido amarillo (0,15 g, rendimiento: 80,2%).

(2) Preparación de (*cis*)-7-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo



5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-amina (0,1 g, 0,33 mmol) y (*cis*)-7-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (0,11 g, 0,31 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (10 ml), y se añadieron tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0,03 g, 0,03 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (0,02 g, 0,04 mmol) y carbonato de cesio (0,2 g, 0,61 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 100 °C y reaccionó bajo agitación durante 6 h. La solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=50:1) para obtener el compuesto del título como sólido amarillo (0,12 g, rendimiento: 62,2%).

(3) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((*cis*)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-7-il)metil)pirimidin-2-amina

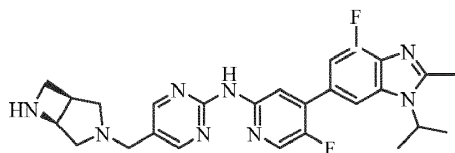


(*cis*)-7-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-1-metil-3,7-diazabicyclo[4,2,0]octan-3-carboxilato de terc-butilo (0,12 g, 0,19 mmol) se disolvió en diclorometano (5 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente bajo agitación durante 3 h. La solución de reacción se concentró. Se añadió éter acético (30 ml). La solución acuosa saturada de hidrógeno carbonato de sodio (10 ml x2) se usó para el lavado. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, y se filtró. El filtrado se concentró y posteriormente se sometió a cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=20:1) para obtener el compuesto del título como sólido amarillo (58 mg, rendimiento: 47,2%).

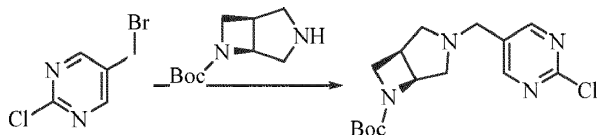
Fórmula molecular: C₂₈H₃₂F₂N₈ Peso molecular: 518,62 LC-MS (m/z): 519,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10,07 (s, 1H), 9,08 (brs, 1H), 8,46 (s, 2H), 8,42 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,35 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,23 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,77-4,85 (m, 1H), 3,62 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H), 3,14 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 2,93-3,08 (m, 6H), 2,62 (s, 3H), 2,54 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 1,72-1,79 (m, 1H), 1,57 (d, *J* = 7,2 Hz, 6H), 1,47-1,56 (m, 1H), 1,15-1,29 (m, 4H).

Ejemplo 31: Preparación de (((1*S*,5*S*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (Compuesto 32)

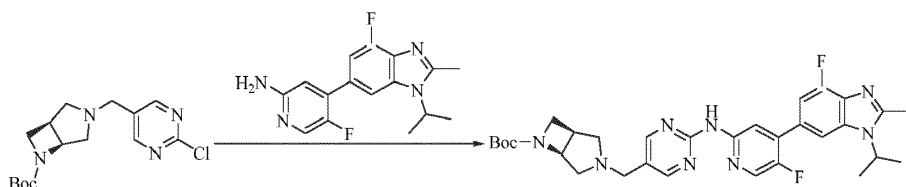


(1) Preparación de (1*R*,5*S*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo



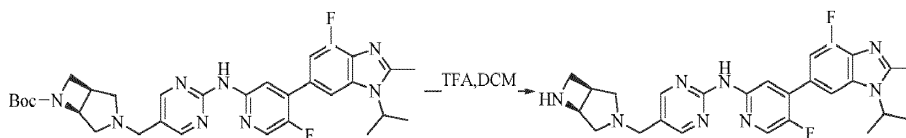
(1*R*,5*S*)-3,6-Diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo (350,0 mg, 1,77 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (15 ml), y se añadieron trietilamina (715,0 mg, 7,08 mmol) y 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (734,0 mg, 3,54 mmol). La mezcla también se agitó durante 2 h. Después de que se completó la reacción, la solución de reacción se concentró, y se añadieron éter acético (50 ml) y agua (30 ml) para separar las fases. La fase acuosa se extrajo con éter acético (30 ml), y las fases orgánicas se combinaron, se concentraron, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: éter acético=1:1) para obtener el compuesto del título (500 mg, rendimiento: 87,0%).

(2) Preparación de (1*R*,5*S*)-3-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]octan-6-carboxilato de terc-butilo



(1*R*,5*S*)-3-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo (500,0 mg, 1,54 mmol), y 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridina-2-amina (465,5 mg, 1,54 mmol) se disolvieron en 1,4-dioxano (15 ml), y se añadieron carbonato de cesio (1,0 g, 3,08 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (141,0 mg, 0,154 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (147,0 mg, 0,308 mmol). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110 °C y reaccionó durante 16 h. La solución de reacción se filtró. El filtrado se concentró, y el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (400 mg, rendimiento: 44,0%).

(3) Preparación de (((1*S*,5*S*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

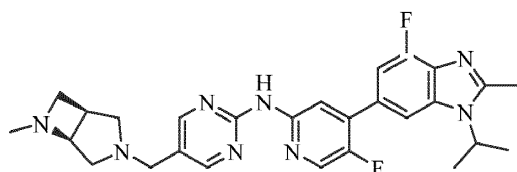


(1*R*,5*S*)-3-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]octan-6-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 0,508 mmol) se disolvió en la solución mixta de diclorometano (5 ml) y ácido trifluoroacético (2 ml). La mezcla se agitó a 20°C durante 30 min. La mezcla se concentró, y se añadió diclorometano (10 ml). Después de la concentración adicional, el residuo se separó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el compuesto del título (160 mg, rendimiento: 64,2%).

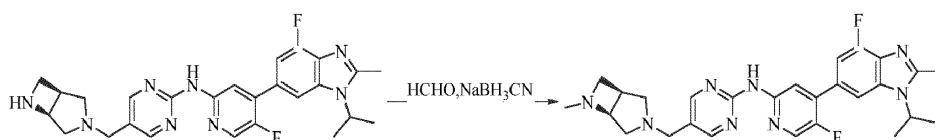
Fórmula molecular: C₂₆H₂₈F₂N₈ Peso molecular: 490,6 LC-MS (*m/z*): 491,3(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆)δ: 10,04 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 8,44 (d, *J* = 6,0Hz, 1H), 8,36 (d, *J* = 2,4Hz, 1H), 7,75(s, 1H), 7,22 (d, *J* = 11,2Hz, 1H), 4,81-4,86 (m, 1H), 4,62-4,67 (m, 1H), 3,87-3,92 (m, 1H), 3,74 (d, *J* = 14,0Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 13,6Hz, 1H), 3,49-3,55 (m, 2H), 3,18-3,21 (m, 1H), 3,05-3,11 (m, 1H), 2,96 (d, *J* = 8,0Hz, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,11-2,19 (m, 2H), 1,57 (d, *J* = 7,2Hz, 6H).

Ejemplo 32: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*R*,5*S*)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 33)



(1) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*R*,5*S*)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)pirimidin-2-amina

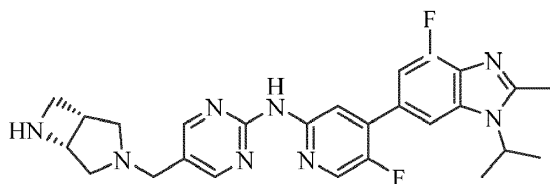


5-(((1*S*,5*S*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina (100 mg, 0,204 mmol) se disolvió en metanol (5 ml), y se añadió solución acuosa de formaldehído (0,5 ml). La mezcla se agitó durante 0,5 h, y cianoborohidruro de sodio (64,0 mg, 1,01 mmol) se añadió a la solución y también se agitó durante 0,5 h. la muestra se separó directamente por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=5:1) para obtener el compuesto del título (20 mg, rendimiento: 19,4%).

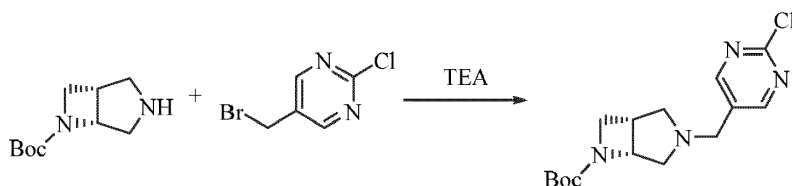
Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,6 LC-MS (m/z): 505,2(M+H⁺)

¹H-RMN (400 MHz, MeOD) δ: 8,60 (s, 2H), 8,55 (d, *J* = 6,0Hz, 1H), 8,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,26 (d, *J* = 11,2Hz, 1H), 4,90-4,93 (m, 1H), 4,62-4,71 (m, 1H), 3,91-3,98 (m, 1H), 3,82 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,23-3,25 (m, 1H), 3,04-3,06 (m, 1H), 2,88 (brs, 3H), 2,69 (s, 3H), 2,35-2,38 (m, 1H), 2,18-2,26 (m, 2H), 2,02-2,04 (m, 1H), 1,69 (d, *J* = 7,2 Hz, 6H).

Ejemplo 33: Preparación de 5-(((1*R*,5*R*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2 -amina (Compuesto 34)

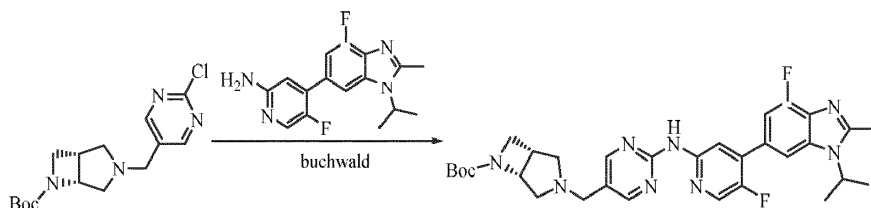


(1) Preparación de (1*S*,5*R*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de *tert*-butilo



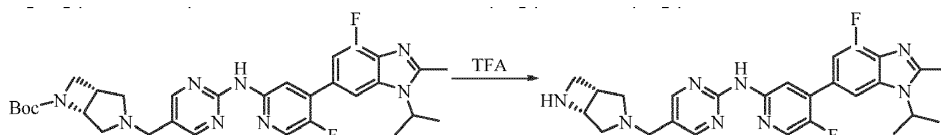
Trietilamina (0,77 g, 7,57 mmol) se añadió a una solución de (1*S*,5*R*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de *tert*-butilo (500 mg, 2,52 mmol) y 5-bromometil-2-cloropirimidina (784 mg, 3,78 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después de la reacción, la solución se concentró bajo presión reducida, y se separó por cromatografía en columna (éter de petróleo: éter acético=2:1) para obtener el producto (750 mg, rendimiento: 91,6%).

(2) Preparación de (1*S*,5*R*)-3-((2-((5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de *tert*-butilo



(1*S*,5*R*)-3-((2-cloropirimidinil-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de *tert*-butilo (200 mg, 0,62 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (223 mg, 0,78 mmol), carbonato de cesio (401 mg, 1,23 mmol), Pd₂(dba)₃ (11 mg, 0,012 mmol), y X-Phos (11 mg, 0,024 mmol) se añadieron a 1,4-dioxano (5 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se hizo reaccionar a 110 °C durante 8 h. Después de la reacción, la mezcla se concentró bajo presión reducida, y se separó por cromatografía en columna (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (210 mg, rendimiento: 57,7%).

(3) Preparación de 5-(((1*R*,5*R*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)-*N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-il)pirimidin-2-amina

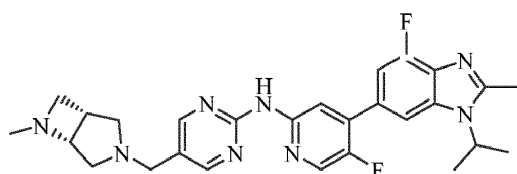


(1*S*,5*R*)-3-((2-((5-Fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)amino)pirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo (210 mg, 0,36 mmol) se añadió a diclorometano (10 ml). se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después de la reacción, la solución de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano, y trietilamina (2 ml) se añadió gota a gota. Después de la concentración adicional bajo presión reducida, el residuo se separó por cromatografía en columna (diclorometano: metanol=5:1) para obtener el producto (120 mg, rendimiento: 68,8%).

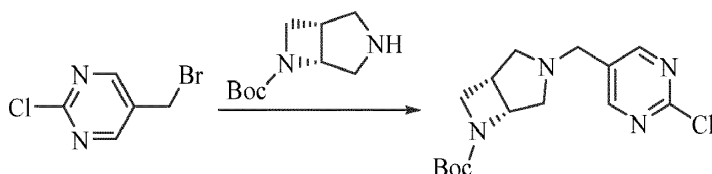
Fórmula molecular: C₂₆H₂₈F₂N₈ Peso molecular: 490,6 LC-MS (m/z): 491,3(M+H⁺)

¹H-RMN(400 MHz, CDCl₃) δ: 8,60 (s, 2H), 8,55 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,27 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,27 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 4,56-4,61 (m, 1H), 3,91 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,75 (q, *J* = 12,4 Hz, 2H), 3,52-3,62 (m, 1H), 3,12-3,26 (m, 2H), 3,01 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,22-2,35 (m, 1H), 2,15-2,22 (m, 1H), 1,89 (s, 1H), 1,69 (d, *J* = 10,0 Hz, 6H).

Ejemplo 34: Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)piridin-2-il)-5-(((1*S*,5*R*)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)pirimidin-2-amina (Compuesto 35)

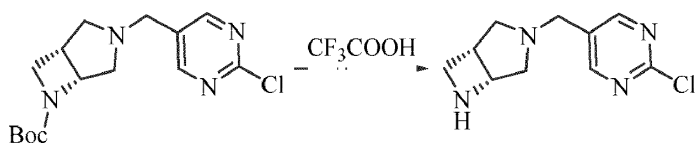


(1) Preparación de (1*S*,5*R*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo



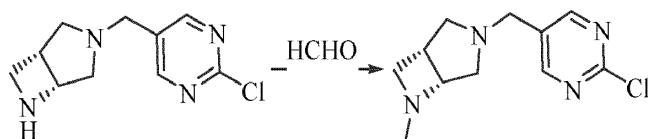
(1*S*,5*R*)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo (256 mg, 1,29 mmol), 5-(bromometil)-2-cloropirimidina (267 mg, 1,29 mmol) y carbonato de potasio (178 mg, 1,29 mmol) se añadieron a acetonitrilo (15 ml), y la mezcla se calentó a 60 °C durante 1 h. La solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para separar el producto (300 mg, rendimiento: 71,6%).

(2) Preparación de (1*R*,5*R*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptano



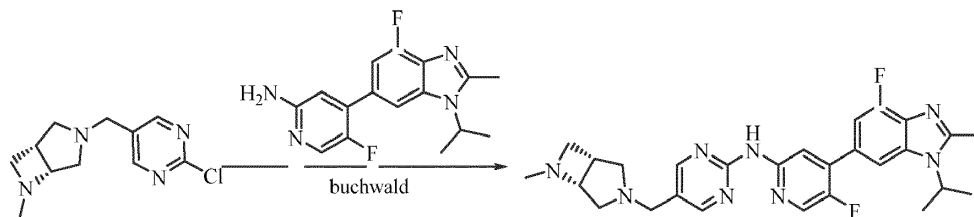
(1*S*,5*R*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-6-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 0,92 mmol) se disolvió en una solución mixta de diclorometano (3 ml) y ácido trifluoroacético (3 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La solución de reacción se concentró, y se añadió una pequeña cantidad de diclorometano. La mezcla se concentró nuevamente para obtener el producto bruto (201 mg). El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación.

(3) Preparación de (1*S*,5*R*)-3-((2-cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptano



(1*R*,5*R*)-3-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptano (201 mg, 0,89 mmol) se disolvió en metanol (10 ml), y solución acuosa de formaldehído (40%, 0,67 ml, 8,9 mmol) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió cianoborohidruro de sodio (561 mg, 8,9 mmol) se añadió lentamente. Después de la adición, la mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 30 min. La solución de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (diclorometano: metanol=10:1) para obtener el producto (124 mg, rendimiento de dos etapas: 56,2%).

(4) Preparación de *N*-(5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il) piridin-2-il)-5-(((1*S*,5*R*)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptan-3-il)metil)pirimidin-2-amina



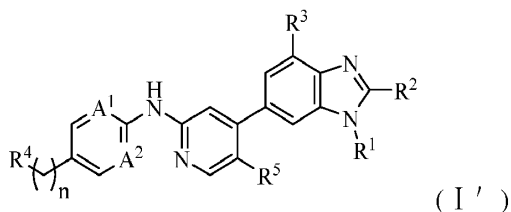
5 (1*S*,5*R*)-3-((2-Cloropirimidin-5-il)metil)-6-metil-3,6-diazabicyclo[3,2,0]heptano (124 mg, 0,52 mmol), 5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-il)piridin-2-amina (157 mg, 0,52 mmol), carbonato de cesio (338 mg, 1,04 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (30 mg) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (60 mg) se añadieron a 1,4-dioxano (10 ml). Bajo la protección de nitrógeno, la mezcla se calentó a 110 °C durante 8 h. La solución de reacción se concentró, y se separó por cromatografía preparativa en fase inversa (agua: metanol=10:1-1:1) para obtener el compuesto del título (26 mg, rendimiento: 10,0%).

10 Fórmula molecular: C₂₇H₃₀F₂N₈ Peso molecular: 504,6 LC-MS (m/z): 505,3(M+H⁺)

¹H-RMN(400 MHz, MeOD) δ: 8,59 (s, 2H), 8,56 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 8,28 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,23 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,25-4,27(m, 1H), 3,71-3,74 (m, 3H), 3,64-3,69 (m, 1H), 3,23-3,30 (m, 2H), 3,06-3,15 (m, 1H), 2,93-2,98 (m, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,56 (s, 3H), 2,13-2,19 (m, 2H), 1,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 6H).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I'), o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros,



en la que:

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, o cicloalquilo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido con Q¹, en la que Q¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

10 R² se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ciano, carbamoilo o alquil C₁₋₆ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno o hidrógeno, y al menos uno de R³ y R⁵ es halógeno;

R⁴ se selecciona de heterociclilo de 3-8 miembros, heterociclilo fusionado de 6-14 miembros, heteroarilo de 5-8 miembros, heteroarilo fusionado de 6-14 miembros, fenilo, naftilo, heterociclilo unido con puente de 6-12 miembros o espiroheterociclilo de 6-12 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q²;

15 Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alcoxi C₁₋₆, alquil C₁₋₆ sulfonilo, alquil C₁₋₆ sulfonilamino, o di-alquil C₁₋₆ amino; o alquilo C₁₋₆, cicloalquilo de 3-8 miembros, heterociclilo de 3-8 miembros o heterociclilo unido con puente de 6-9 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con un sustituyente, en la que el sustituyente se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ amino, di-alquil C₁₋₆ amino, alquil C₁₋₆ sulfonilo, heterociclilo de 3-8 miembros o cicloalquilo de 3-8 miembros;

20 n se selecciona de 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

2. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

25 R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, ciano, carbamoilo o alquilo C₁₋₄ carbonilamino;

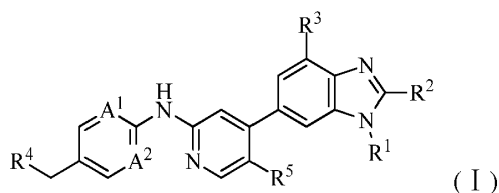
R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno;

30 R⁴ se selecciona de un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno;

Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alcoxi C₁₋₄, o di-alquil C₁₋₄ amino; o alquilo C₁₋₄, cicloalquilo de 3-6 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con un sustituyente, en el que el sustituyente se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquil C₁₋₄ amino, di-alquil C₁₋₄ amino, o cicloalquilo de 3-6 miembros;

35 n se selecciona de 0.

3. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la estructura de fórmula (I),



en la que:

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

5 R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, o cicloalquilo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido con Q¹, en el que Q¹ se selecciona de alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ciano, carbamoilo o alquil C₁₋₆ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno o hidrógeno, y al menos uno de R³ y R⁵ es halógeno;

10 R⁴ se selecciona de heterociclilo de 3-8 miembros, heterociclilo fusionado de 6-14 miembros, heteroarilo de 5-8 miembros, heteroarilo fusionado de 6-14 miembros, fenilo, naftilo, heterociclilo unido con puente de 6-12 miembros o espiroheterociclilo de 6-12 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q²; en el Q² se selecciona de amino, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, heterociclilo de 3-8 miembros o heterociclilo unido con puente de 6-9 miembros.

4. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 3, en el que

15 A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R² se selecciona de alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, ciano, carbamoilo o alquilo C₁₋₄ carbonilamino;

R³ y R⁵ se seleccionan de modo independiente de halógeno;

20 R⁴ se selecciona de heterociclilo 5-7 miembros, heterociclilo fusionado de 6-11 miembros, heterociclilo unido con puente de 6-11 miembros o espiroheterociclilo de 6-11 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, heterociclilo de 5-6 miembros o heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros.

5. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 4, en el que

25 A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de isopropilo;

R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son F;

30 R⁴ se selecciona de heterociclilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

6. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 5, en el que

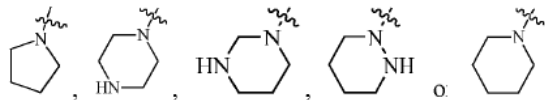
R² se selecciona de metilo;

35 R⁴ se selecciona de un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno se une al metileno de Fórmula (1) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, o un heterociclilo unido con puente de 8 miembros que contiene nitrógeno;

40 en el que el heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un heterociclilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1 a 2 átomos de nitrógeno.

7. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 6 en el que

R⁴ se selecciona de



5 cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de alquilo C₁₋₄ o un heterociclilo unido con puente de 8 miembros que contiene nitrógeno.

8. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 4, en el que;

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

10 R¹ se selecciona de isopropilo;

R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son F;

15 R⁴ se selecciona de heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

9. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 8, en el que

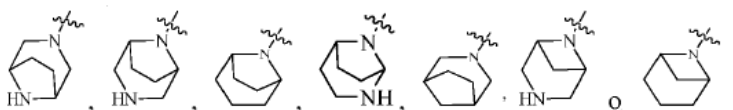
R² se selecciona de metilo;

20 R⁴ se selecciona de un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q²; en el que el un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno se une al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, o un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno;

en el que el heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un heterociclilo unido con puente de 7-9 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1^a 2 átomos de nitrógeno.

25 10. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 9, en el que

R⁴ se selecciona de



30 cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q², en el que Q² se selecciona de alquilo C₁₋₄ o un heterociclilo de 6 miembros que contiene nitrógeno.

11. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 4, en el que

A¹ y A² se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R¹ se selecciona de isopropilo;

35 R² se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

R³ y R⁵ son F;

R⁴ se selecciona de heterociclilo fusionado 6-10 miembros opcionalmente sustituido con Q²; en el que Q² se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

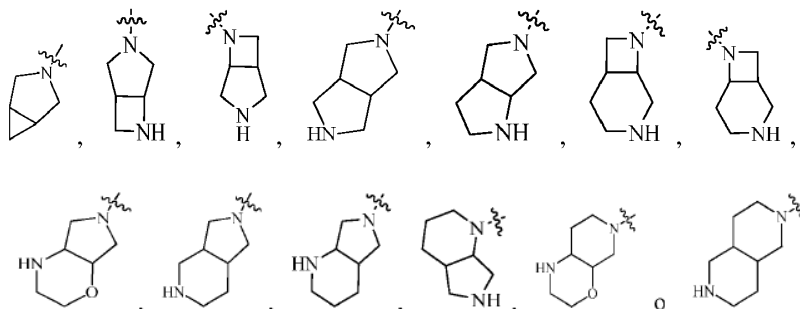
12. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 11, en el que

R^2 se selecciona de metilo;

5 R^4 se selecciona de un heterociclilo fusionado 6-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos idénticos o diferentes y está opcionalmente sustituido con Q^2 ; en el que los heteroátomos preferentemente se seleccionan del átomo de nitrógeno y átomo de oxígeno, y contiene al menos un átomo de nitrógeno, y el heterociclilo fusionado 6-10 miembros se une al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q^2 se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, o alquilo C_{1-4} .

10 **13.** El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 12, en el que

R^4 se selecciona de



cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q^2 , en el que Q^2 se selecciona de amino o alquilo C_{1-4} .

15 **14.** El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 4, en el que

A^1 y A^2 se seleccionan de modo independiente de nitrógeno;

R^1 se selecciona de isopropilo;

R^2 se selecciona de metilo, metoxi, ciano, carbamoilo, o acetilamino;

20 R^3 y R^5 son F;

R^4 se selecciona de espiroheterociclilo de 7-11 miembros opcionalmente sustituido con Q^2 ; en el que Q^2 se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, alquilo C_{1-4} , heterociclilo de 6 miembros o heterociclilo unido con puente de 8 miembros.

25 **15.** El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 14, en el que

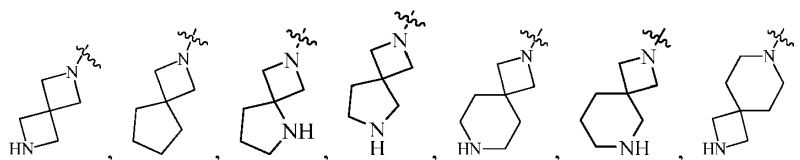
R^2 se selecciona de metilo;

R^4 se selecciona de un espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con Q^2 ; en el que el espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno se une al metileno de Fórmula (I) por medio de un átomo de nitrógeno, en el que Q^2 se selecciona de amino, hidroxilo, trifluorometilo, ciano, o alquilo C_{1-4} ;

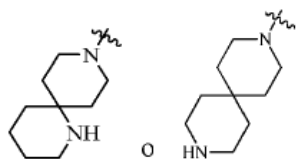
30 en el que el espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno es preferentemente un espiroheterociclilo de 7-11 miembros que contiene nitrógeno que contiene 1 a 2 átomos de nitrógeno.

16. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 15, en el que

R^4 se selecciona de

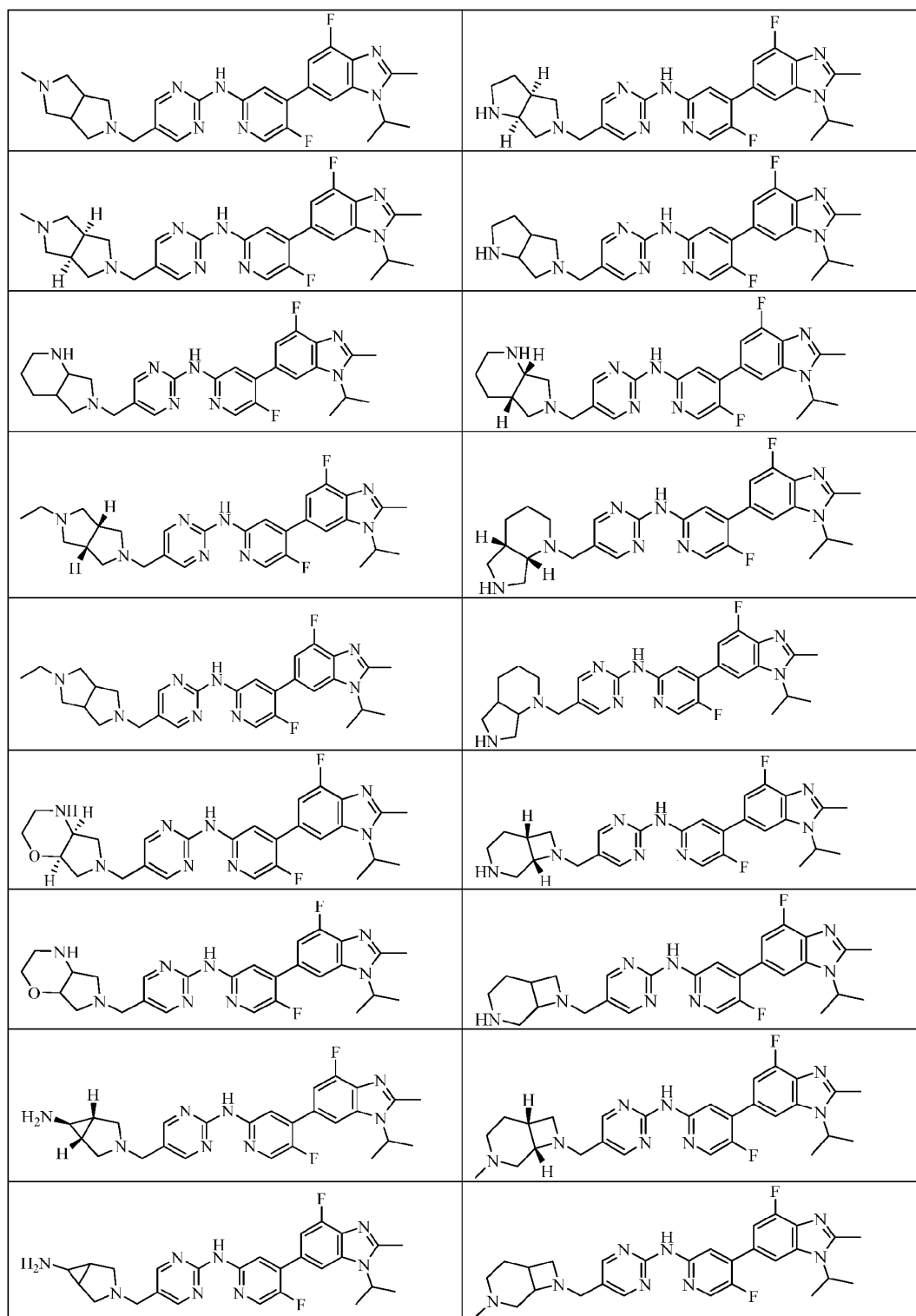


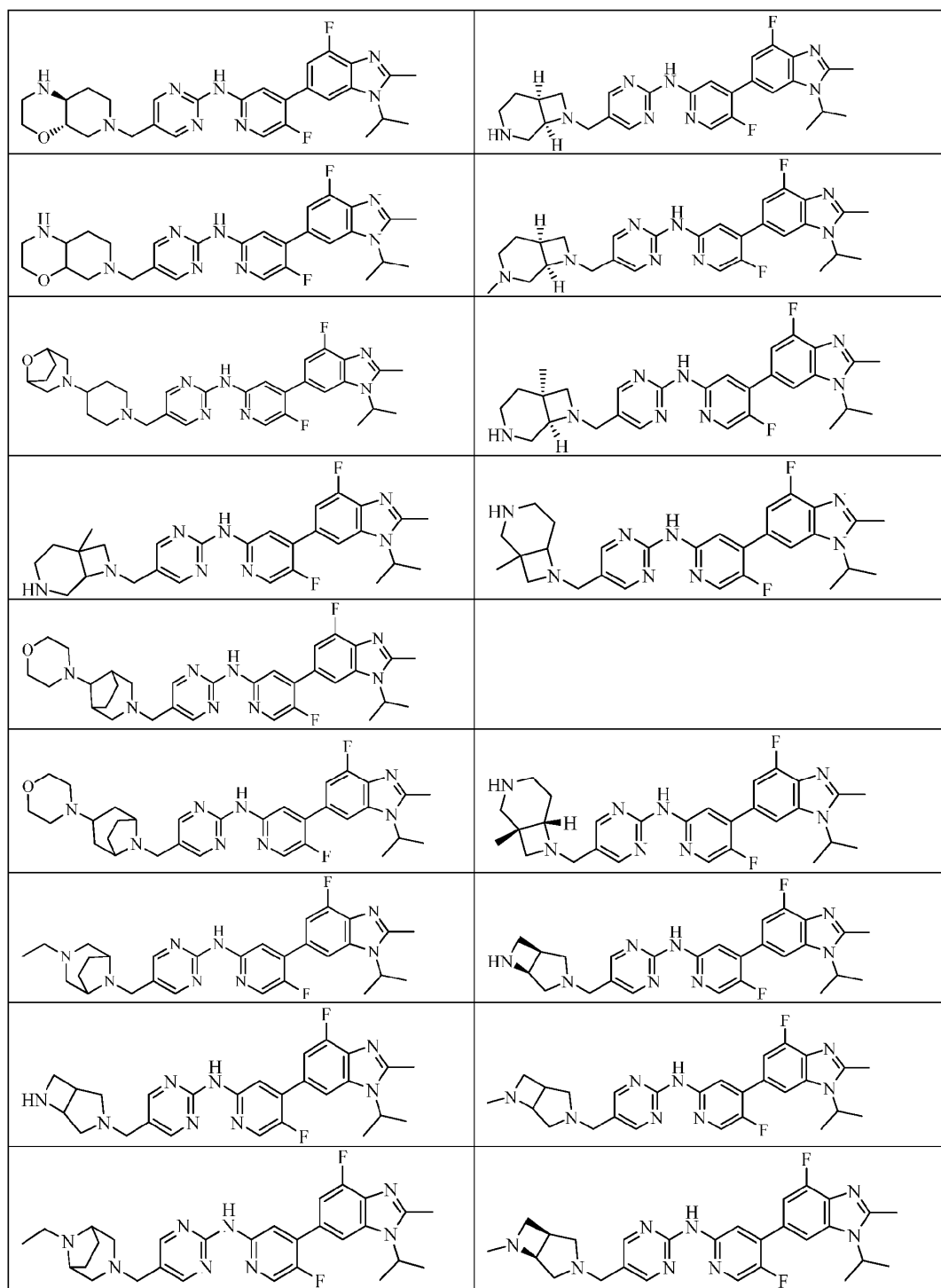
35

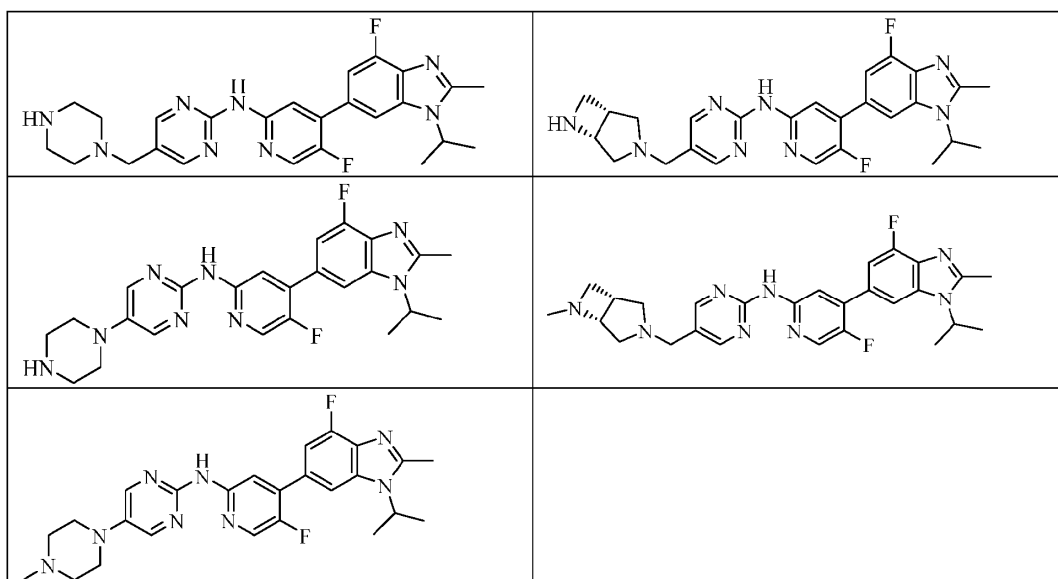


cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con Q^2 , en el que Q^2 se selecciona de alquilo C_{1-4} .

17. El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el compuesto se selecciona de:







18. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables o sus estereoisómeros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, y opcionalmente uno o más portadores farmacéuticamente aceptables;

- 5 preferentemente, la composición farmacéutica que además comprende uno o más agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales;

preferentemente, los agentes antitumorales y/o inmunosupresores adicionales se seleccionan de uno o más de los siguientes: metotrexato, capecitabina, gemcitabina, doxifluridina, pemetrexed disódico, pazopanib, imatinib, erlotinib, lapatinib, gefitinib, vandetanib, herceptina, bevacizumab, rituximab, trastuzumab, paclitaxel, vinorelbina, docetaxel, doxorubicina, hidroxycamptotecina, mitomicina, epirrubicina, pirarubicina, letrozol, tamoxifeno, fulvestrant, triptorelina, flutamida, leuprorelina, anastrozol, ifosfamida, busulfano, ciclofosfamida, carmustina, nimustina, semustina, mecloretamina, melfalan, clorambucilo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, lobaplatino, topotecano, camptotecina, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, Actinomicina D, daunorubicina, adriamicina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina y aminoglutetimida.

- 15 **19.** El compuesto, o una de sus sales, ésteres o solvatos farmacéuticamente aceptables, o sus estereoisómeros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, para usar en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad relacionada con cáncer mediada por CDK4/6 quinasa en un sujeto;

preferentemente, la enfermedad relacionada con cáncer se selecciona de tumor cerebral, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso, carcinoma de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de ovario, carcinoma peritoneal, carcinoma pancreático, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de recto, cáncer de hígado, carcinoma renal, adenocarcinoma de esófago, cáncer escamoso esofágico, cáncer de próstata, cáncer de conducto reproductor femenino, cáncer in situ, linfoma, neurofibromas, carcinoma de tiroides, osteocarcinoma, cáncer de piel, cáncer de cerebro, cáncer de colon, cáncer de testículos, tumor de estroma gastrointestinal, neoplasias de próstata, tumor de mastocitos, mieloma múltiple, melanoma, glioma o sarcoma.

25