

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 354**

51 Int. Cl.:

C07D 249/14 (2006.01)

C07D 241/26 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.01.2015 PCT/IB2015/050344**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.07.2015 WO15107494**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.01.2015 E 15703106 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 3094629**

54 Título: **Derivados de 1-(triazin-3-il/piridazin-3-il)-piper(-azin)idina y composiciones de las mismas para inhibir la actividad de SHP2**

30 Prioridad:

17.01.2014 US 201461928746 P
09.05.2014 US 201461991122 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.02.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

CHEN, ZHUOLIANG;
DORE, MICHAEL;
FORTANET, JORGE GARCIA;
KARKI, RAJESH;
KATO, MITSUNORI;
LAMARCHE, MATTHEW J.;
PEREZ, LAWRENCE BLAS;
WILLIAMS, SARAH y
SENDZIK, MARTIN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 699 354 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de 1-(triazin-3-il/piridazin-3-il)-piper(-azin)idina y composiciones de las mismas para inhibir la actividad de SHP2.

Antecedentes

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos capaces de inhibir la actividad de SHP2. La invención divulga además un proceso para la preparación de compuestos de la invención, proporciona preparaciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, y proporciona tales compuestos o composiciones para uso en el manejo de enfermedades o trastornos asociados con la actividad aberrante de SHP2.

10 Antecedentes de la invención

La fosfatasa de Homología 2 de Src (SHP2) es una proteína tirosina fosfatasa no receptora codificada por el gen PTPN11 que contribuye a múltiples funciones celulares, incluida la proliferación, diferenciación, mantenimiento del ciclo celular y migración. La SHP2 está involucrado en la señalización a través de la proteína quinasa activada por Ras-mitógeno, el JAK-STAT o las rutas de fosfoinositol 3-quinasa-AKT.

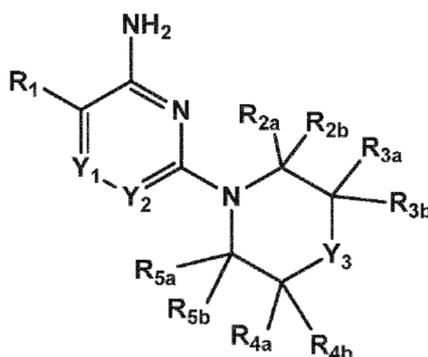
15 La SHP2 tiene dos dominios de homología 2 de Src en terminal N (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP) y una cola de C-terminal. Los dos dominios SH2 controlan la localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe en una conformación inactiva, autoinhibida, estabilizada por una red de unión que involucra residuos tanto de los dominios N-SH2 como de PTP. La estimulación mediante, por ejemplo, citoquinas o factores de crecimiento conduce a la exposición del sitio catalítico que da como resultado la activación enzimática de SHP2.

20 Las mutaciones en el gen PTPN11 y subsecuentemente en SHP2 se han identificado en varias enfermedades humanas, tales como el síndrome de Noonan, el síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mielóide aguda y cánceres de mama, pulmón y colon. SHP2, por lo tanto, representa un objetivo muy atractivo para el desarrollo de novedosas terapias para el tratamiento de diversas enfermedades. Los compuestos de la presente invención satisfacen la necesidad de moléculas pequeñas para inhibir la actividad de SHP2.

25

Resumen de la invención

En un aspecto, la presente invención divulga compuestos de Fórmula I:



I

30 en la que: Y₁ se selecciona de CH y N; Y₂ se selecciona de CR₆ y N; Y₃ se selecciona de NH y CR₇R₈; R₁ es -XR_{1a}; en donde R_{1a} se selecciona de C₆₋₁₀arilo, C₃₋₈cicloalquilo, C₃₋₈cicloalqueno y un grupo heteroarilo de 5-9 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O y S; en donde dicho arilo o heteroarilo de R_{1a} está sustituido con 1 a 5 grupos R₉ seleccionados independientemente de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, C₁₋₄alquilo sustituido con hidroxilo, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alquilo sustituido con amino, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo; y X se selecciona de S(O)_m, O, C(O), COR₁₁, CR_{10a}R_{10b}, NR₁₁; en donde m se selecciona de 0, 1 y 2; cada

35 R_{10a} y R_{10b} se selecciona independientemente de hidrógeno, halo y C₁₋₄alquilo; y R₁₁ se selecciona de hidrógeno y C₁₋₄alquilo; R_{2a} y R_{2b} se seleccionan independientemente de hidrógeno, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, amino, hidroxilo, C₃₋₈cicloalquilo y C₁₋₄alquilo-amino; R_{3a} y R_{3b} se seleccionan independientemente de halo, carbonilo, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, amino, hidroxilo, C₃₋₈cicloalquilo y C₁₋₄alquilo-amino; R_{4a} y R_{4b} se seleccionan independientemente de hidrógeno,

- halo, carbonilo, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, amino, hidroxilo, C₃₋₈cicloalquilo y C₁₋₄alquilo-amino; R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente de hidrógeno, carbonilo, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, amino, hidroxilo, C₃₋₈cicloalquilo y C₁₋₄alquilo-amino; en donde cualesquier dos grupos seleccionados de R_{2a}, R_{3a}, R_{4a}, R_{5a}, R_{6a} y R₇ pueden formar un anillo insaturado o parcialmente saturado de 5 a 6 miembros.; R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, ciano, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, amino-carbonilo, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi sustituido con halo, C₁₋₄alquilo sustituido con hidroxilo, C₁₋₄alquilo sustituido con amino, -S(O)₁₋₂R_{6a}, -C(S)R_{6a}, -C(O)NR_{6a}R_{6b}, -C(NH)NR_{6a}R_{6b} y -NR_{6a}C(O)R_{6b}; en donde R_{6a} y R_{6b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y C₁₋₄alquilo; R₇ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo, halo, hidroxilo, C₁₋₄alquilo sustituido con hidroxilo, C₃₋₆cicloalquilo, fenilo y un heteroarilo de 5 miembros que contiene hasta 3 heteroátomos seleccionados de O, S y N; y R₈ se selecciona de amino, C₁₋₄alquilo sustituido con amino y metil-amino.
- 5 La invención proporciona compuestos de Fórmula I, en donde la estructura de Fórmula I se define por la Fórmula Ia, Fórmula Ib, Fórmula Ic y Fórmula Id.

- En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula I, o un derivado de N-óxido, tautómero, isómeros individuales y mezclas de sus isómeros; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con uno o más excipientes adecuados.
- 15 En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una enfermedad en un animal en el que la modulación de la actividad de SHP2 puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de las enfermedades, en donde el compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al animal en una cantidad terapéuticamente efectiva.
- 20 En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una enfermedad en un animal en el que la modulación de la actividad de SHP2 puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de las enfermedades, en donde el compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al animal en una cantidad terapéuticamente efectiva, y en combinación simultánea o secuencial con un agente terapéutico contra el cáncer.
- 25 En un quinto aspecto, la presente invención divulga el uso de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un animal en el que la actividad de la SHP2 contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

- En un sexto aspecto, la presente invención divulga un proceso para preparar compuestos de Fórmula I y los derivados de N-óxido, derivados de profármacos, derivados protegidos, isómeros individuales y mezclas de sus isómeros, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 30

Definiciones

- Los términos generales utilizados aquí anteriormente y en lo sucesivo preferiblemente tienen dentro del contexto de esta divulgación los siguientes significados, a menos que se indique otra cosa, donde los términos más generales que se utilizan, independientemente unos de otros, se sustituyan por definiciones más específicas o permanecen, definiendo así realizaciones más detalladas. de la invención:
- 35

- "Alquilo" se refiere a una unidad estructural hidrocarburo ramificada o no ramificada totalmente saturada que tiene hasta 20 átomos de carbono. A menos que se indique lo contrario, alquilo se refiere a unidades estructurales hidrocarbonadas que tienen 1 a 7 átomos de carbono (C₁₋₇ alquilo), o 1 a 4 átomos de carbono (C₁₋₄ alquilo). Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, tert-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo y similares. Un alquilo sustituido es un grupo alquilo que contiene uno o más, tal como uno, dos o tres sustituyentes seleccionados de grupos halógeno, hidroxilo o alcoxi. Alquilo sustituido con halógeno y alcoxi sustituido con halógeno, pueden ser de cadena lineal o ramificada e incluyen metoxi, etoxi, difluorometilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo, difluorometoxi, trifluorometoxi y similares.
- 40

- "Ariilo" significa un ensamblaje de anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene de seis a diez átomos de carbono del anillo. Por ejemplo, ariilo puede ser fenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. "Ariileno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariilo.
- 45

- "Heteroarilo" es como se define para ariilo más arriba, donde uno o más de los miembros del anillo es un heteroátomo. Por ejemplo, C₅₋₁₀heteroarilo es un mínimo de 5 miembros según lo indicado por los átomos de carbono, pero estos átomos de carbono pueden ser reemplazados por un heteroátomo. En consecuencia, C₅₋₁₀heteroarilo incluye piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalino, quinolinilo, benzofuranilo, benzopirano, benzotiopirano, benzo[1,3],dioxol, imidazolilo, benzoimidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.
- 50

"Cicloalquilo" significa un ensamblaje de anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclico fusionado o policíclico puentado que contiene el número de átomos del anillo indicado. Por ejemplo, C₃₋₁₀ cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, etc.

5 "Heterocicloalquilo" significa cicloalquilo, como se define en esta solicitud, con la condición de que uno o más de los carbonos del anillo indicados, se reemplacen por una unidad estructural seleccionada de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-, en donde R es hidrógeno, C₁₋₄ alquilo o un grupo protector de nitrógeno. Por ejemplo, el C₃₋₈ heterocicloalquilo como se usa en esta solicitud para describir los compuestos de la invención incluye morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]8-ilo, tiomorfolino, sulfanomorfolino, sulfonomorfolino, etc.

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

"SHP2" significa "fosfatasa de Homología 2 de Src" y también se conoce como SH-PTP2, SH-PTP3, Syp, PTP1D, PTP2C, SAP-2 o PTPN11.

15 Los cánceres que albergan "mutaciones de PTPN11" incluyen, pero no se limitan a: N58Y; D61Y, V; E69K; A72V, T, D; E76G, Q, K (ALL); G60A; D61Y; E69V; F71K; A72V; T73I; E76G, K; R289G; G503V (AML); G60R, D61Y, V, N; Y62D; E69K; A72T, V; T73I; E76K, V, G, A, Q; E139D; G503A, R; Q506P (JMML); G60V; D61V; E69K; F71L; A72V; E76A (MDS); Y63C (CMML); Y62C; E69K; T507K (neuroblastoma); V46L; N58S; E76V (cáncer de pulmón); R138Q (melanoma); E76G (cáncer de colon).

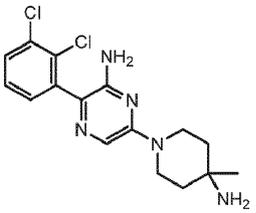
20 Los compuestos de fórmula I pueden tener diferentes formas isoméricas. Por ejemplo, cualquier átomo de carbono asimétrico puede estar presente en la configuración (R), (S) o (R, S), preferiblemente en la configuración (R) o (S). Los sustituyentes en un doble enlace o especialmente un anillo pueden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

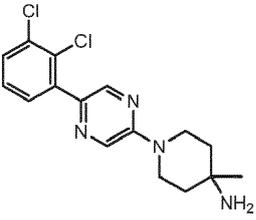
25 Cuando se usa la forma plural (por ejemplo, compuestos, sales), esto incluye el singular (por ejemplo, un solo compuesto, una sola sal). "Un compuesto" no excluye que (por ejemplo, en una formulación farmacéutica) esté presente más de un compuesto de fórmula I (o una de sus sales), el "un" simplemente representa el artículo indefinido.

Dondequiera que se mencione un compuesto o compuestos de la fórmula I, esto también pretende incluir N-óxidos de tales compuestos y/o tautómeros de los mismos.

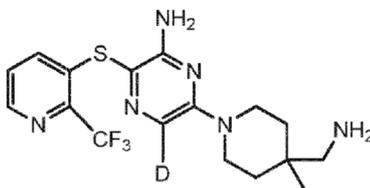
30 El término "y/o un N-óxido del mismo, un tautómero del mismo y/o una sal (preferiblemente farmacéuticamente aceptable) del mismo significa especialmente que un compuesto de la fórmula I puede estar presente como tal o en mezcla con su N-óxido, como tautómero (por ejemplo, debido al tautomerismo de ceto-enol, lactama-lactima, ácido amida-imídico o enamina-imina) o en (por ejemplo, reacción de equivalencia causada) mezcla con su tautómero, o como una sal del compuesto de la fórmula I y/o cualquiera de estas formas o mezclas de dos o más de tales formas.

35 Para los siguientes compuestos, el grupo NH₂ unido al anillo de pirazina es crítico para la potencia. El análisis de la estructura cristalográfica muestra el grupo NH₂ en una interacción intramolecular con el grupo carbonilo del esqueleto E250 del residuo de SHP2:

Compuesto	SHP2 IC50
	70nM

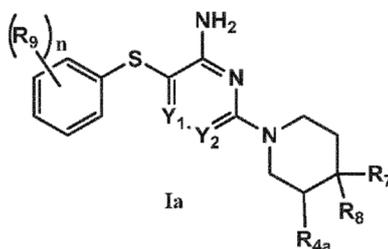
Compuesto	SHP2 IC50
	5.7 μ M

La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Una variación isotópica de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como una en la que al menos un átomo se reemplaza por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica que se encuentra usualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos incluyen, pero no se limitan a, isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl y ^{123}I . Ciertas variaciones isotópicas de los compuestos de la invención y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, aquellas en las que se incorpora un isótopo radiactivo tal como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución de tejidos y/o sustratos en tejidos. En ejemplos particulares, los isótopos ^3H y ^{14}C se pueden usar por su facilidad de preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isótopos como ^2H puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, tal como un aumento de los requisitos de vida media in vivo o de dosificación reducida. Las variaciones isotópicas de los compuestos de la invención o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden preparar generalmente mediante procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede existir en forma deuterada como se muestra a continuación:



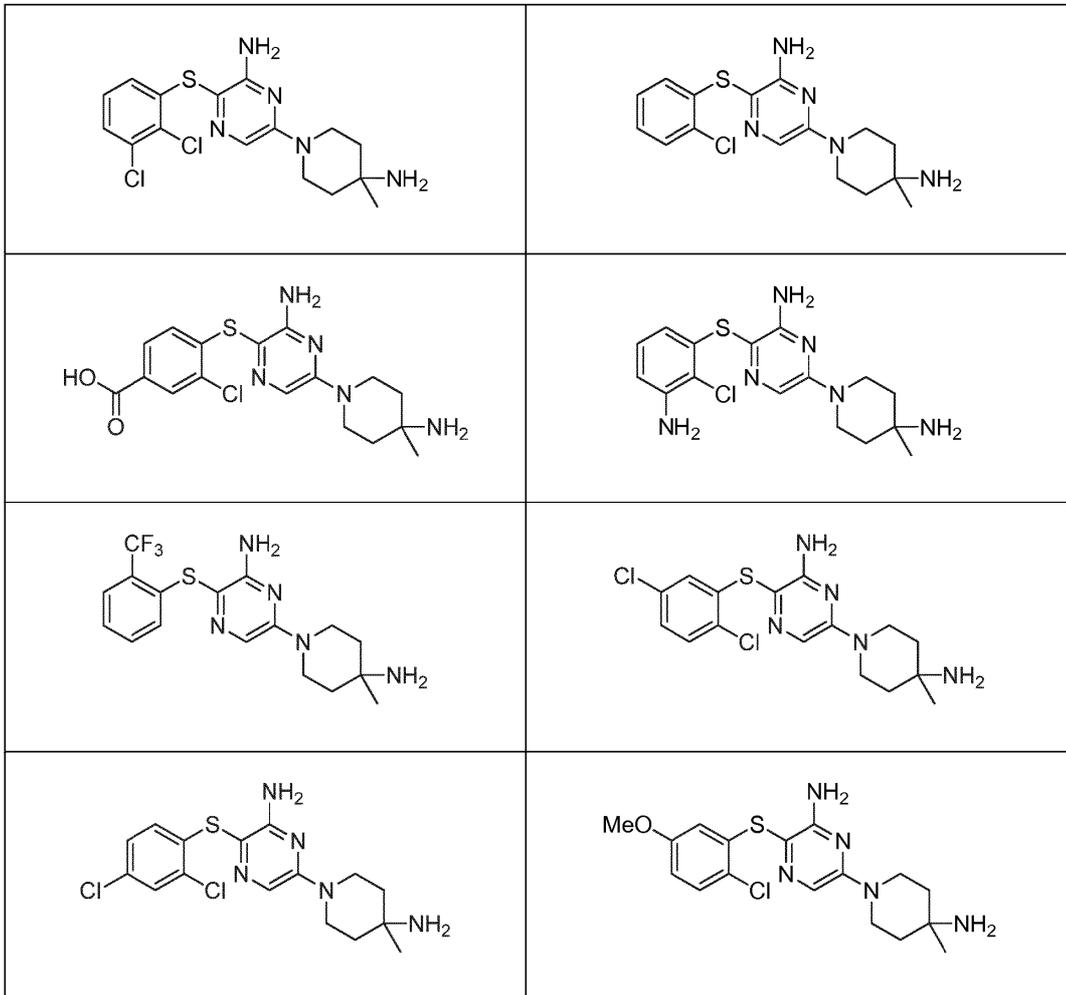
Descripción de realizaciones preferidas

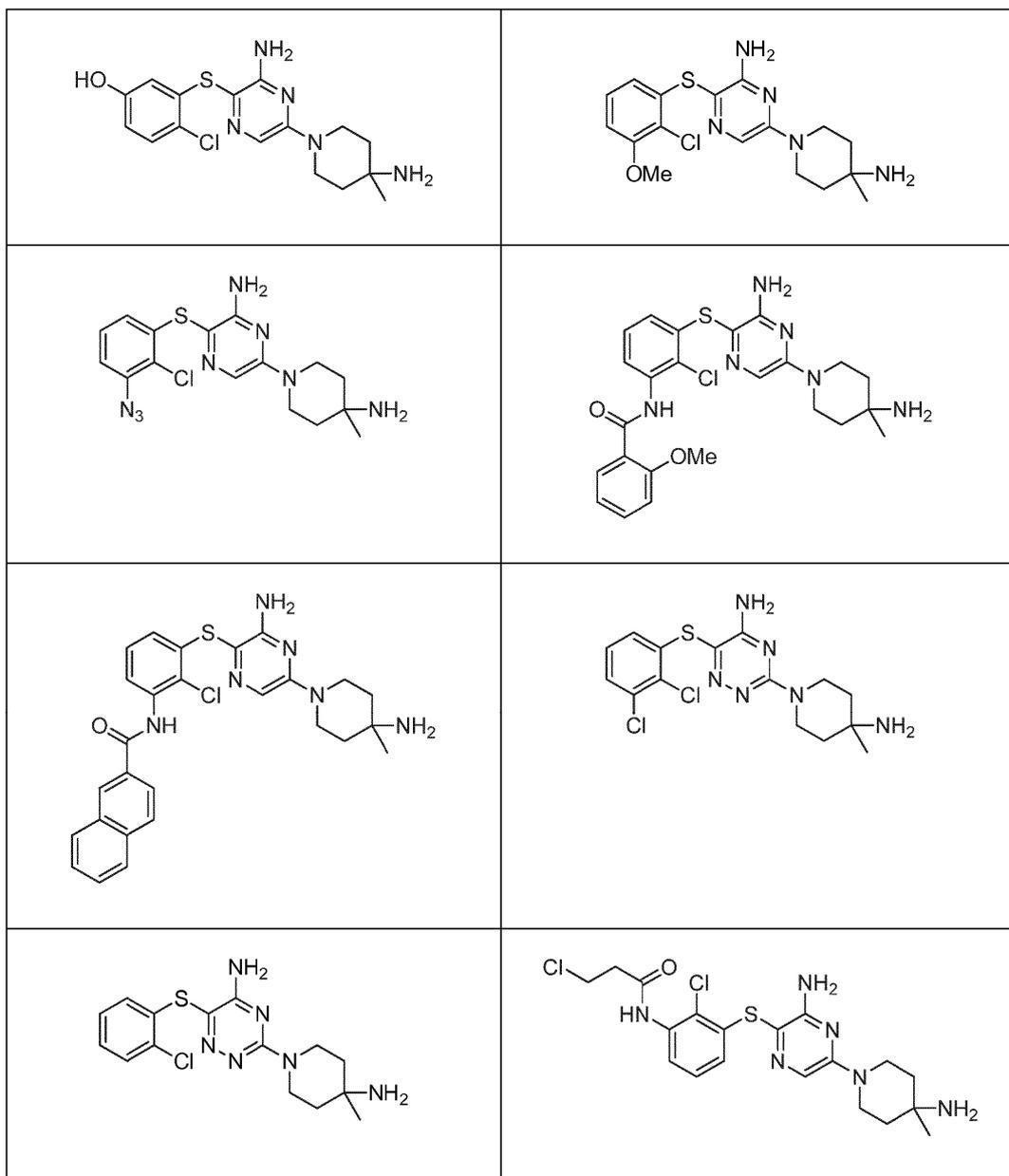
En un aspecto de la invención, con respecto a los compuestos de Fórmula I, son compuestos de Fórmula Ia:

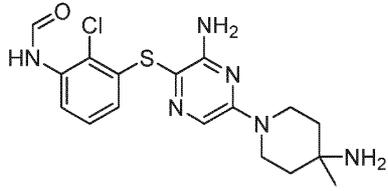
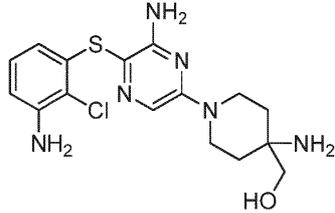
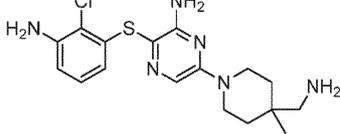
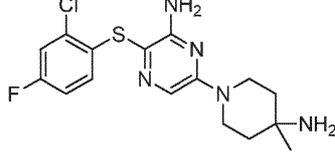
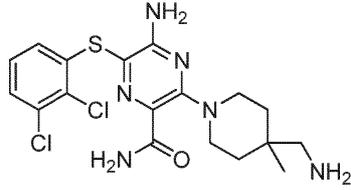
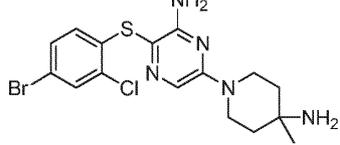
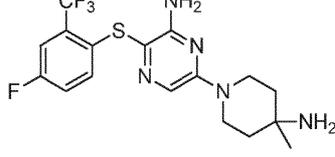


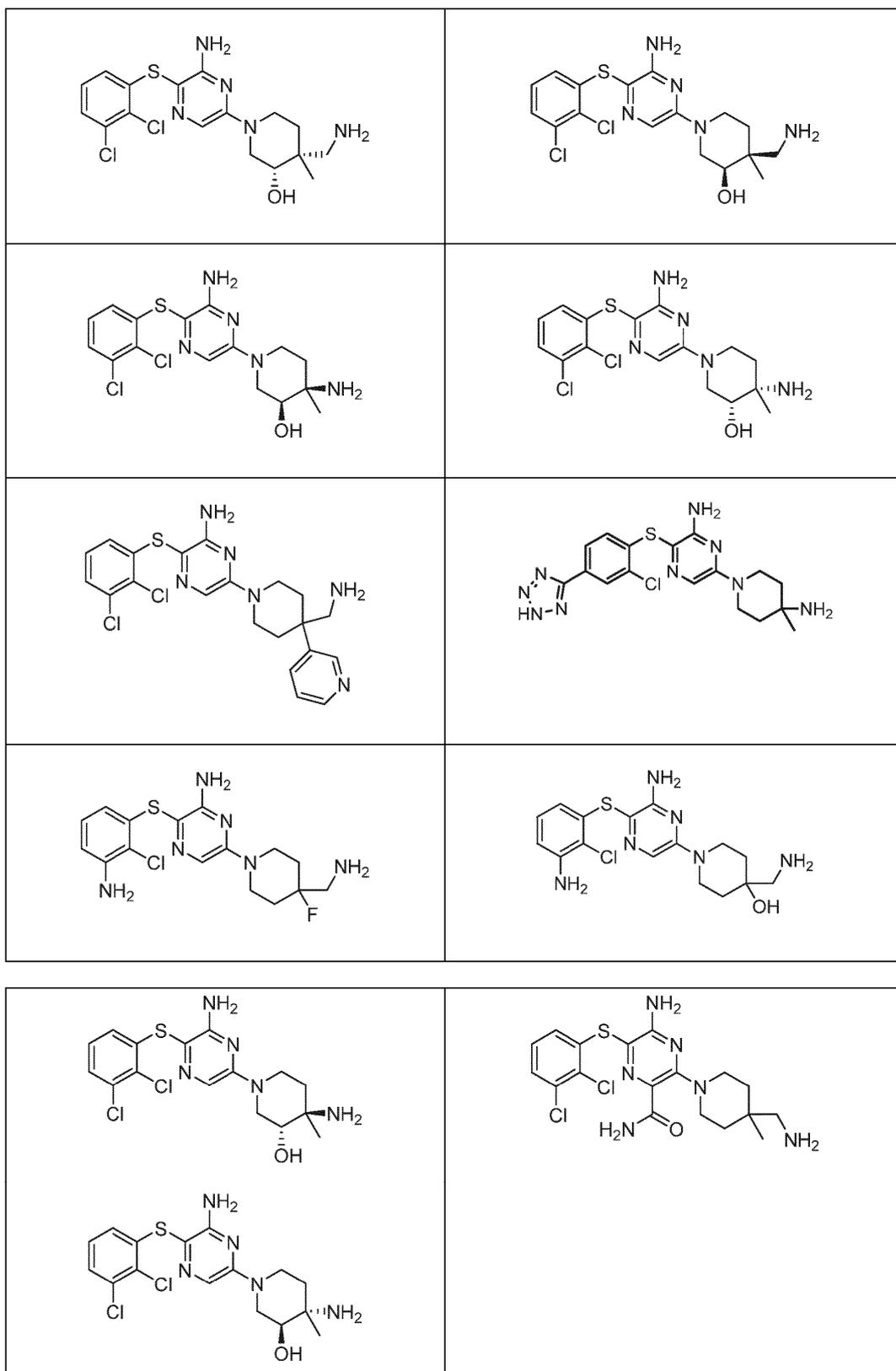
en la que: n se selecciona de 1, 2, 3, 4 y 5; Y₁ se selecciona de CH y N; Y₂ se selecciona de CR₆ y N; R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo; R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo; R₇ se selecciona de hidrógeno, metilo, halo, hidroxilo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo; R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino; R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo; R₁₀ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional de la invención, son compuestos, o la sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se seleccionan de:

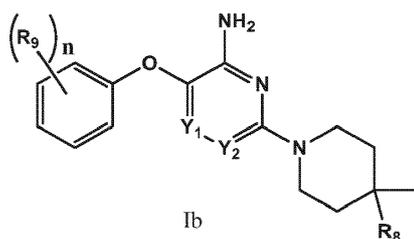




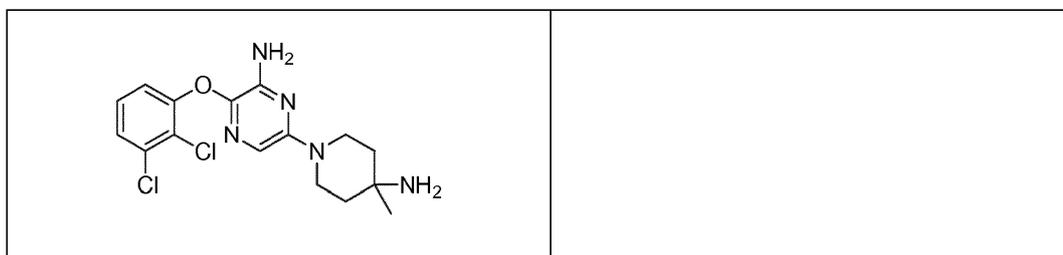


En otro aspecto de la invención son compuestos de fórmula Ib:

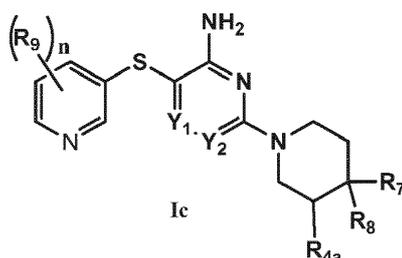


- 5 en la que: n se selecciona de 1, 2, 3, 4 y 5; Y₁ se selecciona de CH y N; Y₂ se selecciona de CR₆ y N; R₆ se selecciona de hidrógeno, halo y metilo; R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino; R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo; R₁₀ se selecciona de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional de la invención son compuestos., o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionados de:

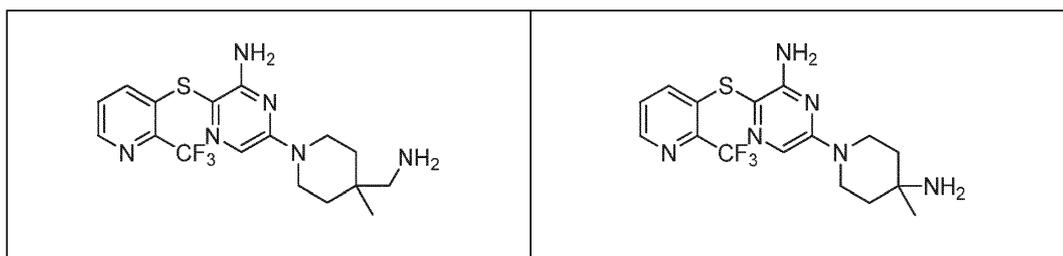


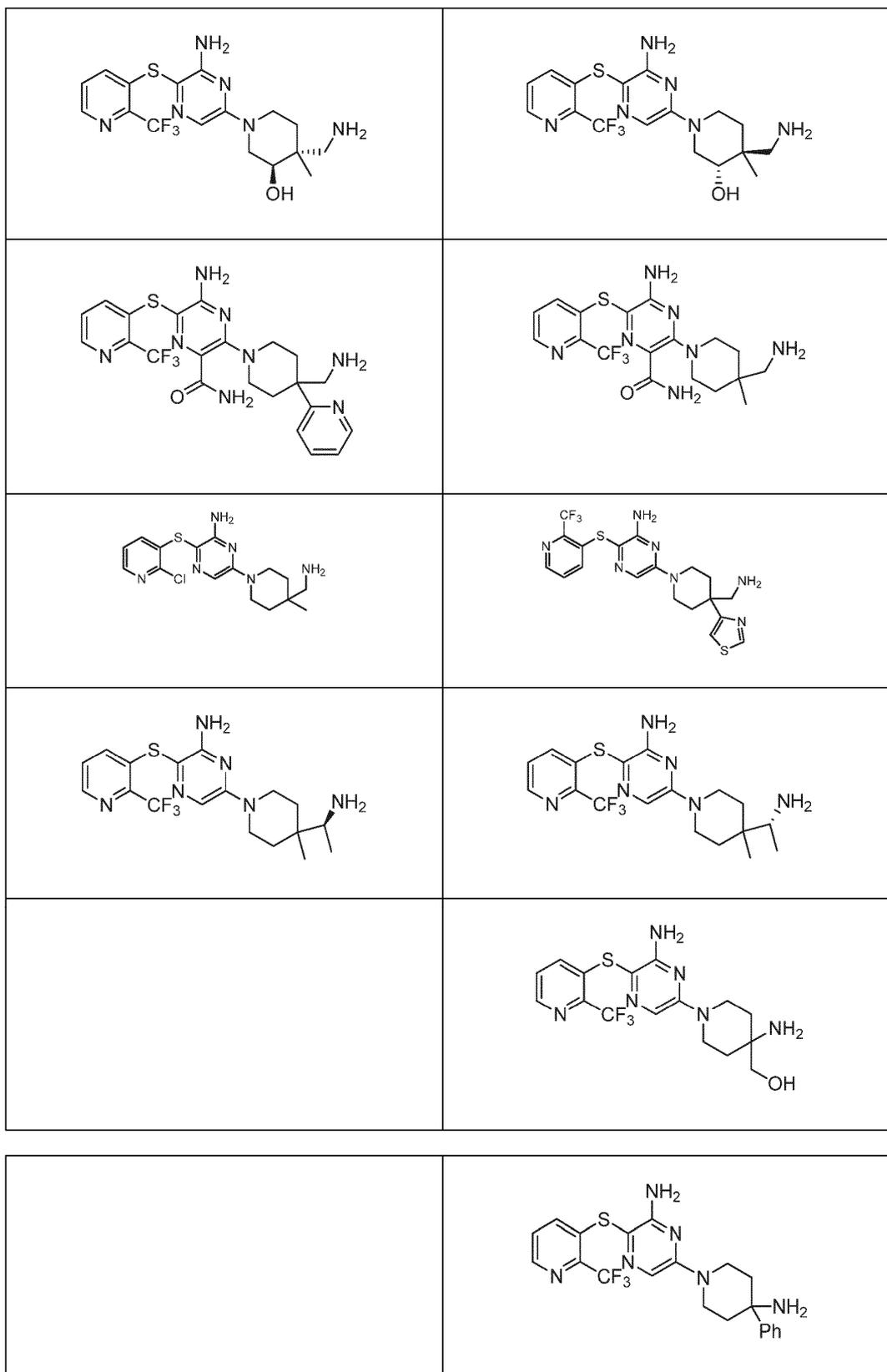
- 10 En otro aspecto de la invención son de Fórmula. Ic:



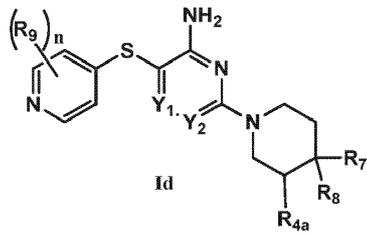
- 15 en la que: n se selecciona de 1, 2, 3 y 4; Y₁ se selecciona de CH y N; Y₂ se selecciona de CR₆ y N; R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo; R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo; R₇ se selecciona de metilo, hidroxilo, halo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo; R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino; R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo; R₁₀ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 En un aspecto adicional de la invención son compuestos, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionados de:



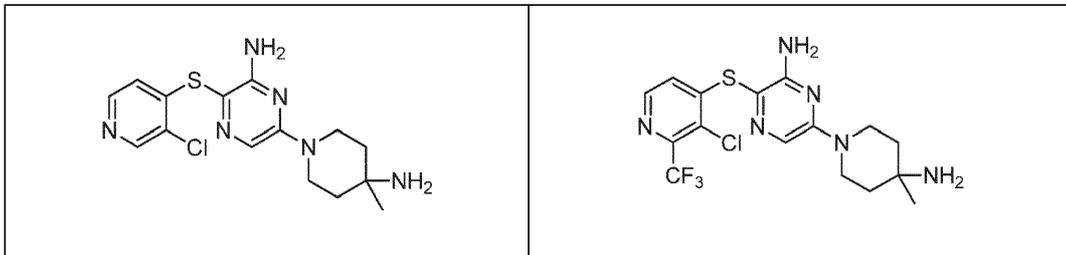


En otro aspecto de la invención son compuestos de fórmula Id:

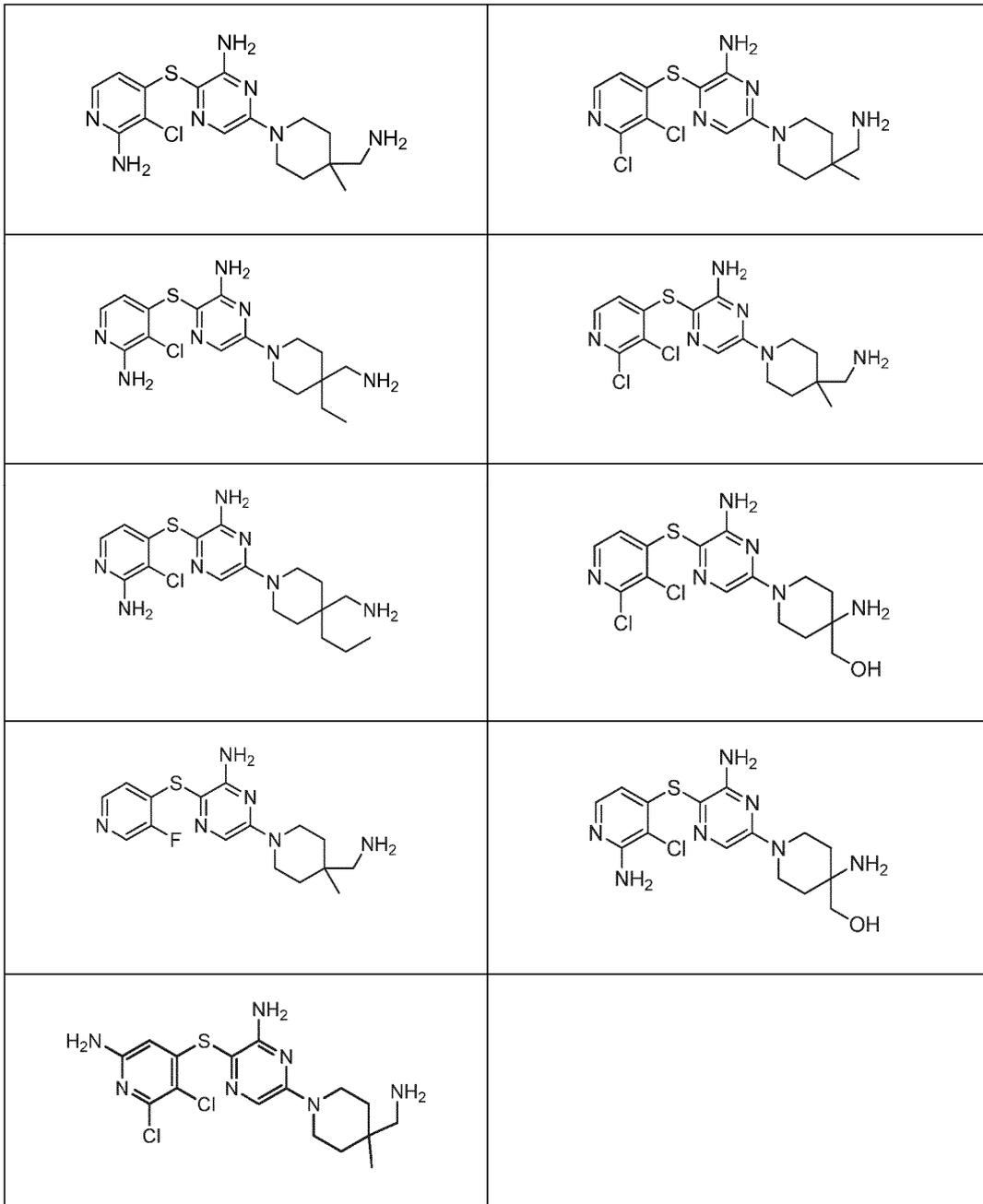


- 5 en la que: n se selecciona de 1, 2, 3 y 4; Y₁ se selecciona de CH y N; Y₂ se selecciona de CR₆ y N; R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo; R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo; R₇ se selecciona de metilo, etilo, propil, hidroxilo, halo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo; R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino; R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo; R₁₀ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

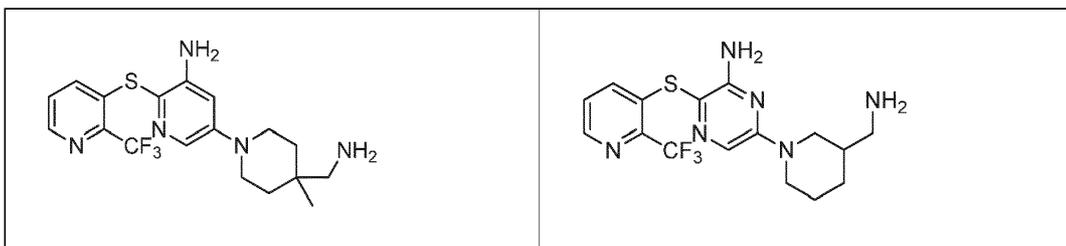
En una realización adicional son compuestos, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionados de:



10

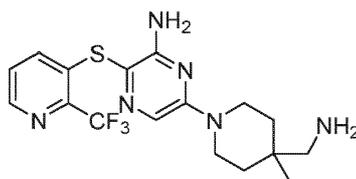


En otro aspecto de la invención es un compuesto seleccionado de:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En otro aspecto de la invención se proporciona un compuesto que es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Farmacología y Utilidad.

5 La fosfatasa de Homología 2 de Src (SHP2) es una proteína tirosina fosfatasa codificada por el gen PTPN11 que contribuye a múltiples funciones celulares que incluyen la proliferación, diferenciación, mantenimiento del ciclo celular y migración. SHP2 está involucrado en la señalización a través de la proteína quinasa activada por Ras-mitógeno, el JAK-STAT o las rutas de fosfoinositol 3-quinasa-AKT. SHP2 media la activación de las quinasas MAP de Erk1 y Erk2 (Erk1/2, Erk) por las tirosina quinasas receptoras tales como ErbB1, ErbB2 y c-Met.

10 SHP2 tiene dos dominios de homología 2 de Src en el terminal N (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP) y una cola de C-terminal. Los dos dominios SH2 controlan la localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe en una conformación inactiva, que inhibe su propia actividad a través de una red de enlace que involucra residuos de los dominios tanto de N-SH2 como de PTP. En respuesta a la estimulación del factor de crecimiento, SHP2 se une a sitios específicos fosforilados en tirosina en proteínas de acoplamiento tal como Gab1 y Gab2 a través de sus dominios SH2. Esto induce un cambio conformacional que da como resultado la activación de SHP2.

15 Se han identificado mutaciones en PTPN11 en varias enfermedades humanas, tal como el síndrome de Noonan, síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda y cánceres de mama, pulmón y colon. SHP2 es una importante molécula de señalización corriente abajo para una variedad de receptores tirosina quinasas, incluidos los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-R), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-R) y factor de crecimiento epidérmico (EGF-R). SHP2 también es una importante molécula de señalización corriente abajo para la activación de la ruta de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAP) que puede conducir a la transformación celular, un prerrequisito para el desarrollo del cáncer. La anulación de SHP2 inhibió significativamente el crecimiento celular de líneas celulares de cáncer de pulmón con mutación de SHP2 o translocaciones de EML4/ALK, así como cánceres de mama y cánceres de esófago amplificados con EGFR. SHP2 también se activa corriente abajo de los oncogenes en el carcinoma gástrico, el linfoma anaplásico de células grandes y el glioblastoma.

20 Síndrome de Noonan (NS) y síndrome de Leopard (LS): las mutaciones de PTPN11 causan LS (lentigenes múltiples, anomalías en la conducción electrocardiográfica, hipertelorismo ocular, estenosis pulmonar, genitales anormales, retraso del crecimiento, sordera neurosensorial) y NS (anomalías congénitas que incluyen defectos cardiacos, anomalías craneofaciales y baja estatura). Ambos trastornos forman parte de una familia de síndromes autosómicos dominantes causados por mutaciones de la línea germinal en los componentes de la ruta de la proteína quinasa activadora de mitógenos RAS/RAF/MEK/ERK, necesaria para el crecimiento y diferenciación normal de las células. La regulación aberrante de esta ruta tiene efectos profundos, particularmente en el desarrollo cardíaco, lo que da como resultado diversas anomalías, incluyendo defectos valvuloseptales y/o cardiomiopatía hipertrófica (HCM). Las perturbaciones de la ruta de señalización de MAPK se han establecido como fundamentales para estos trastornos y se han identificado varios genes candidatos a lo largo de esta ruta en humanos, incluyendo las mutaciones en KRAS, NRAS, SOS1, RAF1, BRAF, MEK1, MEK2, SHOC2 y CBL. El gen más comúnmente mutado en NS y LS es PTPN11. Las mutaciones de la línea germinal en PTPN11 (SHP2) se encuentran en aproximadamente el 50% de los casos con NS y casi todos los pacientes con LS que comparten ciertas características con NS. Para NS, Y62D y Y63C las sustituciones en la proteína son en gran medida invariantes y están entre las mutaciones más comunes. Ambas mutaciones afectan la conformación catalíticamente inactiva de SHP2 sin perturbar la unión de la fosfatasa a sus asociados de señalización fosforiladas.

25 Leucemias mielomonocíticas juveniles (JMML)- las mutaciones somáticas en PTPN11 (SHP2) ocurren en aproximadamente el 35% de los pacientes con JMML, un trastorno mieloproliferativo infantil (MPD). Estas mutaciones de ganancia de función son típicamente mutaciones puntuales en el dominio N-SH2 o en el dominio de fosfatasa, que impiden la autoinhibición entre el dominio catalítico y el dominio N-SH2, lo que da como resultado la actividad de SHP2.

30 Leucemia mieloide aguda - se han identificado mutaciones en PTPN11 en: aproximadamente el 10% de las leucemias agudas pediátricas, tales como el síndrome mielodisplásico (MDS); 7% de leucemia linfoblástica aguda de células B (B-ALL); y aproximadamente el 4% de la leucemia mieloide aguda (AML).

Las mutaciones de NS y leucemia causan cambios en los aminoácidos localizados en la interfaz formada por los dominios N-SH2 y PTP en la conformación de SHP2 autoinhibida, interrumpiendo la interacción inhibitoria intramolecular, lo que lleva a una hiperactividad del dominio catalítico.

5 SHP2 actúa como un regulador positivo en la señalización del receptor tirosina quinasa (RTK). Los cánceres que contienen alteraciones RTK (EGFR^{amp}, Her2^{amp}, FGFR^{amp}, Met^{amp}, RTK translocado/activado, es decir, ALK, BCR/ABL) incluyen cánceres de esófago, mama, pulmón, colon, gástrico, glioma, cabeza y cuello.

10 El cáncer esofágico (o cáncer de esófago) es una malignidad del esófago. Existen diversos subtipos, principalmente cáncer de células escamosas (<50%) y adenocarcinoma. Existe una alta tasa de expresión de RTK en el adenocarcinoma esofágico y el cáncer de células escamosas. Un inhibidor de SHP2 de la invención puede, por lo tanto, emplearse para estrategias de tratamiento innovadoras.

15 El cáncer de mama es un tipo importante de cáncer y una de las principales causas de muerte en las mujeres, donde las pacientes desarrollan resistencia a los medicamentos actuales. Hay cuatro subtipos principales de cánceres de mama, entre los que se incluyen el luminal A, el luminal B, similar a Her2 y similar a triple negativo/basal. El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es un cáncer de mama agresivo que carece de terapia dirigida específica. El receptor del factor de crecimiento epidérmico I (EGFR) se ha convertido en un objetivo prometedor en TNBC. La inhibición de Her2 así como de EGFR a través de SHP2 puede ser una terapia prometedora para el cáncer de mama.

20 Cáncer de pulmón - el NSCLC es actualmente una de las principales causas de mortalidad relacionada con el cáncer. representa aproximadamente el 85% de los cánceres de pulmón (predominantemente adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas). Si bien la quimioterapia citotóxica sigue siendo una parte importante del tratamiento, las terapias dirigidas basadas en alteraciones genéticas tales como EGFR y ALK en el tumor tienen más probabilidades de beneficiarse de una terapia dirigida.

25 Cáncer de colon - se sabe que aproximadamente del 30% al 50% de los tumores colorrectales tienen un KRAS mutado (anormal), y las mutaciones BRAF ocurren en 10 a 15% de los cánceres colorrectales. Para un subconjunto de pacientes cuyos tumores colorrectales se ha demostrado que expresan más de EGFR, estos pacientes muestran una respuesta clínica favorable al tratamiento anti-EGFR.

30 El cáncer gástrico es uno de los tipos de cáncer más prevalentes. Se conoce en la técnica la expresión aberrante de tirosina quinasas, como se refleja por la aberrante fosforilación de tirosina en células de cáncer gástrico. Tres receptores tirosina quinasas, c-met (receptor de HGF), receptor de FGF 2 y erbB2/neu se amplifican con frecuencia en carcinomas gástricos. Por lo tanto, la subversión de diferentes rutas de señal puede contribuir a la progresión de diferentes tipos de cánceres gástricos.

El neuroblastoma es un tumor pediátrico del sistema nervioso simpático en desarrollo, que representa aproximadamente el 8% de los cánceres infantiles. Se ha postulado que las alteraciones genómicas del gen de la quinasa del linfoma anaplásico (ALK) contribuyen a la patogénesis del neuroblastoma.

35 Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN). Los altos niveles de expresión de EGFR se correlacionan con un mal pronóstico y la resistencia a la radioterapia en una variedad de cánceres, principalmente en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN). El bloqueo de la señalización de EGFR da como resultado la inhibición de la estimulación del receptor, la proliferación celular y la invasividad y metástasis reducidas. El EGFR es, por lo tanto, un objetivo principal para la nueva terapia contra el cáncer en SCCHN.

40 La presente invención se refiere a compuestos capaces de inhibir la actividad de SHP2. La invención divulga además un proceso para la preparación de compuestos de la invención y proporciona preparaciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos. Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I como se define en el Resumen de la invención, para uso en el tratamiento de trastornos mediados por SHP2 que comprenden la etapa de administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I como se define en el Resumen de la Invención.

45 En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dichos trastornos mediados por SHP2 son cánceres seleccionados de, pero no limitados a: JMML; AML; MDS; BOLA; neuroblastoma; esofágico; cáncer de mama; cáncer de pulmón; cáncer de colon; cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello.

50 Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de otras enfermedades o condiciones relacionadas con la actividad aberrante de SHP2. Por lo tanto, como un aspecto adicional, la invención se refiere a un compuesto de fórmula I, para uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado de: NS; LS; JMML; AML; MDS; B-ALL; neuroblastoma; esofágico; cáncer de mama; cáncer de pulmón; cáncer de colon; cáncer gástrico; cáncer de cabeza y cuello, en particular síndrome de Noonan, síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas

juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda, cáncer de mama, cáncer de esófago, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de cabeza, neuroblastoma, Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma gástrico, linfoma anaplásico de células grandes y glioblastoma.

5 Un inhibidor de SHP2 de la presente invención puede combinarse de manera útil con otro compuesto farmacológicamente activo, o con otros dos o más compuestos farmacológicamente activos, particularmente en el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se definió anteriormente, se puede administrar de manera simultánea, secuencial o por separado en combinación con uno o más agentes seleccionados de agentes de quimioterapia, por ejemplo, inhibidores mitóticos
10 tales como un taxano, un alcaloide de la vinca, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina o vinflunina, y otros agentes anticancerígenos, por ejemplo cisplatino, 5-fluorouracilo o 5-fluoro-2-4(1H,3H)-pirimidindiona (5FU), flutamida o gemcitabina.

Tales combinaciones pueden ofrecer ventajas significativas, incluida la actividad sinérgica, en la terapia.

En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho compuesto se administra por vía parenteral.

15 En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho compuesto se administra por vía intramuscular, intravenosa, subcutánea, oral, pulmonar, intratecal, tópica o intranasal.

En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho compuesto se administra sistémicamente.

20 En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho paciente es un mamífero.

En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho paciente es un primate.

25 En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere al compuesto mencionado anteriormente para uso, en donde dicho paciente es un humano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I como se define en el Resumen de la invención, para uso en el tratamiento de un trastorno mediado por SHP2, que comprende la etapa de: administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente quimioterapéutico en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I como se define en el Resumen
30 de la invención.

Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos descritos anteriormente, formulados junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe en detalle a
35 continuación, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, artículos empapados (soluciones acuosas o no acuosas o suspensiones), tabletas, por ejemplo, aquellas destinadas a la absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación en la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como,
40 por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o un parche de liberación controlada o aerosol aplicado a la piel; (4) por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; (8) nasalmente; (9) pulmonar; o (10) por vía intratecal.

45 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa en este documento significa que la cantidad de un compuesto, material o composición que comprende un compuesto de la presente invención es efectiva para producir algún efecto terapéutico deseado en al menos una subpoblación de células en un animal a una relación razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

50 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación razonable de beneficio/riesgo.

La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" como se usa en este documento significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, ayuda para la fabricación (por ejemplo, lubricante, talco de magnesio, estearato de calcio o zinc, o ácido estérico), o material de encapsulación de solvente, involucrado en llevar o transportar el compuesto en cuestión de un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladas de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Como se expuso anteriormente, ciertas realizaciones de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y son, por lo tanto, capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" a este respecto, se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos, relativamente no tóxicas, de los compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse in situ en el vehículo de administración o en el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada durante la purificación subsecuente. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato y similares. (véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos en cuestión incluyen las sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroxicaléico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluensulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isotónico y similares.

En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por lo tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de bases orgánicas, no tóxicas, relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales también pueden prepararse in situ en el vehículo de administración o el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoniaco, o con una amina orgánica, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales representativas de álcali o alcalinotérreo incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio y similares. Aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares. (véase, por ejemplo, Berge et al., Supra)

Agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

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

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método bien

- conocido en la técnica de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped que se trate, el modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación única será generalmente la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, del cien por ciento, esta cantidad oscilará entre aproximadamente el 0,1 por ciento y aproximadamente el noventa y nueve por ciento del ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente el 5 por ciento a aproximadamente el 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 30 por ciento.
- En ciertas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, celulosas, liposomas, agentes formadores de micelas, por ejemplo, ácidos biliares y vehículos poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas realizaciones, una formulación mencionada anteriormente hace biodisponible por vía oral un compuesto de la presente invención.
- Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de enlazar un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan enlazando de manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.
- Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, tabletas, pastillas (utilizando una base saborizada, usualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.
- En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos, trocillos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) agentes de relleno o diluyentes, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario y surfactantes, tales como poloxámero y laurilsulfato de sodio; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol y surfactantes no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico y mezclas de los mismos; (10) agentes colorantes; y (11) agentes de liberación controlada, tales como crospovidona o etil celulosa. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como agentes de relleno en cápsulas de gelatina blanda y de cáscara dura usando excipientes tales como lactosa o azúcares lácteos, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.
- Una tableta se puede hacer por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas pueden prepararse utilizando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente con actividad de superficie o dispersante. Las tabletas moldeadas pueden fabricarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.
- Las tabletas, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden marcar con cortes o preparar opcionalmente con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo que contiene, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Pueden formularse para liberación rápida, por ejemplo, secadas por congelación. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retiene las bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición que

liberen los ingredientes activos solamente, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

- 5 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tal como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, de semillas de algodón, maní, maíz, germen, aceite de oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos. sorbitán, y mezclas de los mismos.

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

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

- 20 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorio o un salicilato, que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

- 25 Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen tales vehículos que se sabe que son apropiados en la técnica.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, regulador o propelente que pueda ser necesario.

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

- 35 Los polvos y aspersiones pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Además, los aerosoles pueden contener propelentes habituales, como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como el butano y el propano.

- 40 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Tales formas de dosificación se pueden hacer disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. Los potenciadores de la absorción también se pueden usar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La tasa de tal flujo puede controlarse bien sea proporcionando una membrana de control de la tasa o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

- 45 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas, estériles, farmacéuticamente aceptables, que pueden reconstituirse en soluciones inyectables estériles o dispersiones justo antes de su uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

- 50 Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, como el

oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerida en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

5 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos sobre los compuestos en cuestión puede garantizarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenólico sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede lograr mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

10 En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es deseable disminuir la absorción del fármaco de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene una escasa solubilidad en agua. La tasa de absorción del fármaco depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

15 Las formas de depósito inyectables se hacen formando matrices de microencapsulación de los compuestos en cuestión en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de fármaco a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, la tasa de liberación del fármaco se puede controlar. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

20 Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos, a humanos y animales, pueden administrarse per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0,1 a 99% (más preferiblemente, 10 a 30%) de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

25 Las preparaciones de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto, se dan en formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en forma de tabletas o cápsulas, por inyección, inhalación, loción para los ojos, pomada, supositorio, etc., administración por inyección, infusión o inhalación; tópico por loción o pomada; y rectal por supositorios. Se prefieren las administraciones orales.

30 Las expresiones "administración parenteral" y "administrada parenteralmente" como se usan en este documento significan modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

35 Las expresiones "administración sistémica", "administrada sistémicamente", "administración periférica" y "administrada periféricamente" como se usa en este documento significan la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, de manera que ingrese al sistema del paciente y, por lo tanto, está sujeto a metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

40 Estos compuestos pueden administrarse a humanos y otros animales para terapia por cualquier vía de administración adecuada, incluida la oral, nasalmente, como por ejemplo, un aerosol, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternalmente y tópicamente, como por polvos, ungüentos o gotas, incluso bucal y sublingual.

45 Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales conocidos por aquellos de experiencia en la técnica.

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

50 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o el éster, sal o amida del mismo, la ruta de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción o el metabolismo del compuesto particular que se está empleando, la tasa y el grado de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación

con el compuesto particular empleado, la edad, el sexo, el peso, el estado, la salud general y la historia médica anterior del paciente que está siendo tratado, y factores bien conocidos en las artes médicas.

5 Un médico o veterinario que tenga experiencia ordinaria en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar las dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta lograr el efecto deseado.

10 En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será la cantidad del compuesto que sea la dosis más baja efectiva para producir un efecto terapéutico. Tal dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. En general, las dosis orales, intravenosas, intracerebroventriculares y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se usan para los efectos analgésicos indicados, oscilarán entre aproximadamente 0,0001 y aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día.

Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo puede administrarse en dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas de dosis unitarias. La dosificación preferida es una administración por día.

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

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

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos en cuestión, como se describe anteriormente, formulados junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe en detalle a continuación, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, artículos empapados (soluciones acuosas o no acuosas) suspensiones), tabletas, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicar en la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; (3) la aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o aerosol aplicado a la piel, los pulmones o las membranas mucosas; o (4) intravaginal o intrarrectalmente, por ejemplo, como pesario, crema o espuma; (5) sublingual o bucalmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; o (8) nasalmente.

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

El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluidos los primates, en particular los humanos, y otros mamíferos como equinos, bovinos, porcinos y ovinos; y aves de corral y mascotas en general.

35 El compuesto de la invención puede administrarse como tal o en mezclas con vehículos farmacéuticamente aceptables y también puede administrarse junto con agentes antimicrobianos tales como penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos y glicopéptidos. La terapia conjuntiva, por lo tanto, incluye la administración secuencial, simultánea y separada del compuesto activo de manera que los efectos terapéuticos del primero administrado no desaparecen completamente cuando se administra el siguiente.

40 La tecnología de microemulsificación puede mejorar la biodisponibilidad de algunos agentes farmacéuticos lipófilos (insolubles en agua). Los ejemplos incluyen Trimetrine (Dordunoo, SK, et al., Drug Development and Industrial Pharmacy, 17 (12), 1685-1713, 1991 y REV 5901 (Sheen, PC, et al., J Pharm Sci 80 (7), 712- 714, 1991). Entre otras cosas, la microemulsificación proporciona una mayor biodisponibilidad al dirigir preferentemente la absorción al sistema linfático en lugar del sistema circulatorio, lo que evita el hígado y evita la destrucción de los compuestos en la circulación hepatobiliar.

45 Si bien se contemplan todos los portadores anfífilos adecuados, los portadores actualmente preferidos son generalmente aquellos que tienen un estado Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS), y que pueden tanto solubilizar el compuesto de la presente invención como microemulsificarlo en una etapa posterior cuando la solución entra en contacto con una fase acuosa compleja (tal como la que se encuentra en el tracto gastrointestinal humano). Por lo general, los ingredientes anfífilos que satisfacen estos requisitos tienen valores HLB (equilibrio hidrófilo a lipofílico) de 2-20, y sus estructuras contienen radicales alifáticos de cadena lineal en el rango de C-6 a C-20. Ejemplos son glicéridos grasos polietilenglicolizados y polietilenglicoles.

50 Los transportadores anfífilos disponibles comercialmente están particularmente contemplados, incluyendo las series Gelucire, Labrafil, Labrasol o Lauroglycol (todos fabricados y distribuidos por Gattefosse Corporation, Saint Priest,

Francia), PEG-mono-oleato, PEG-di-oleato, PEG-monolaurato y di-laurato, lecitina, polisorbato 80, etc. (producido y distribuido por varias empresas en los Estados Unidos y en todo el mundo).

5 Los polímeros hidrófilos adecuados para usar en la presente invención son aquellos que son fácilmente solubles en agua, pueden unirse covalentemente a un lípido formador de vesículas y son tolerados in vivo sin efectos tóxicos (es decir, son biocompatibles). Los polímeros adecuados incluyen polietilenglicol (PEG), poliláctico (también denominado polilactida), ácido poliglicólico (también denominado poliglicólido), un copolímero de ácido poliláctico-poliglicólico y alcohol polivinílico. Los polímeros preferidos son aquellos que tienen un peso molecular de aproximadamente 100 o 120 daltons hasta aproximadamente 5,000 o 10,000 daltons, y más preferiblemente de aproximadamente 300 daltons a aproximadamente 5,000 daltons. En una realización particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 5.000 daltons, y más preferiblemente que tiene un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 5.000 daltons. En una realización particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol de 750 daltons (PEG (750)). Los polímeros también pueden definirse por el número de monómeros en los mismos; una realización preferida de la presente invención utiliza polímeros de al menos aproximadamente tres monómeros, tales polímeros de PEG consisten en tres monómeros (aproximadamente 150 daltons).

Otros polímeros hidrófilos que pueden ser adecuados para uso en la presente invención incluyen polivinilpirrolidona, polimetoxazolina, polietiloxazolina, polihidroxipropilmetacrilamida, polimetacrilamida, polidimetilacrilamida y celulosas derivadas tales como hidroximetilcelulosa o hidroxietilcelulosa.

20 En ciertas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un polímero biocompatible seleccionado del grupo que consiste en poliamidas, policarbonatos, polialquilenos, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, polímeros de polivinilo, poliglicólidos, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, celulosas, polipropileno, polietilenos, poliestireno, polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poli(ácido bórico), poli(ácido valérico), poli(lactida-co-caprolactona), polisacáridos, proteínas, ácidos polihialurónicos, policianoacrilatos, y combinaciones, mezclas o copolímeros de los mismos.

25 Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos, que consisten en 6, 7 u 8 unidades de glucosa, designadas por la letra griega alfa, beta o gamma, respectivamente. No se sabe que existan ciclodextrinas con menos de seis unidades de glucosa. Las unidades de glucosa están unidas por enlaces alfa-1,4-glucosídicos. Como consecuencia de la configuración en silla de las unidades de azúcar, todos los grupos hidroxilo secundarios (en C-2, C-3) están ubicados en un lado del anillo, mientras que todos los grupos hidroxilo primarios en C-6 están situados en el otro lado. Como resultado, las caras externas son hidrófilas, lo que hace que las ciclodextrinas sean solubles en agua. En contraste, las cavidades de las ciclodextrinas son hidrófobas, ya que están revestidas por el hidrógeno de los átomos C-3 y C-5, y por los oxígenos de tipo éter. Estas matrices permiten la complejación con una variedad de compuestos relativamente hidrófobos, que incluyen, por ejemplo, compuestos esteroideos tales como como 17-beta-estradiol (véase, por ejemplo, van Uden et al. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38: 1-3 -113 (1994)). La complejación tiene lugar por las interacciones de Van der Waals y por la formación de enlaces de hidrógeno. Para una revisión general de la química de las ciclodextrinas, véase, Wenz, *Agnew. Chem. En t. Ed. Engl.*, 33: 803-822 (1994).

30 Las propiedades físicoquímicas de los derivados de la ciclodextrina dependen en gran medida del tipo y grado de sustitución. Por ejemplo, su solubilidad en agua varía de insoluble (por ejemplo, triacetil-beta-ciclodextrina) a 147% soluble (p/v) (G-2-beta-ciclodextrina). Además, son solubles en muchos disolventes orgánicos. Las propiedades de las ciclodextrinas permiten el control sobre la solubilidad de diversos componentes de la formulación al aumentar o disminuir su solubilidad.

35 Se han descrito numerosas ciclodextrinas y métodos para su preparación. Por ejemplo, Parmeter (I), et al. (Patente de Estados Unidos No. 3.453.259) y Gramera, et al. (Patente de Estados Unidos No. 3.459.731) describieron ciclodextrinas electroneutrales. Otros derivados incluyen ciclodextrinas con propiedades catiónicas [Parmeter (II), Patente de EE. UU. No. 3.453.257], ciclodextrinas reticuladas insolubles (Solms, Patente de Estados Unidos No. 3.420.788) y ciclodextrinas con propiedades aniónicas [Parmeter (III), Patente de Estados Unidos No. 3.426.011]. Entre los derivados de ciclodextrina con propiedades aniónicas, se han agregado ácidos carboxílicos, ácidos fosforosos, ácidos fosfinosos, ácidos fosfónicos, ácidos fosfóricos, ácidos tiosfosfónicos, ácidos tiosulfónicos y ácidos sulfónicos a la ciclodextrina parental [véase, Parmeter (III), supra]. Además, los derivados de sulfoalquil éter ciclodextrina han sido descritos por Stella, et al. (Patente de Estados Unidos No. 5.134.127).

40 Los liposomas consisten en al menos una membrana de bicapa lipídica que encierra un compartimiento interno acuoso. Los liposomas se pueden caracterizar por tipo de membrana y por tamaño. Las vesículas unilamelares pequeñas (SUV) tienen una sola membrana y típicamente oscilan entre 0,02 y 0,05 μm de diámetro; Las vesículas unilamelares grandes (LUVS) son típicamente más grandes que 0.05 μm . Las vesículas grandes oligolamelares y las vesículas multilamelares tienen capas de membrana múltiples, generalmente concéntricas, y son típicamente más

grandes que 0.1 μm . Los liposomas con varias membranas no concéntricas, es decir, varias vesículas más pequeñas contenidas dentro de una vesícula más grande, se denominan vesículas multivesiculares.

5 Un aspecto de la presente invención se refiere a formulaciones que comprenden liposomas que contienen un compuesto de la presente invención, donde la membrana de liposoma se formula para proporcionar un liposoma con capacidad de carga aumentada. Alternativamente o además, el compuesto de la presente invención puede estar contenido dentro de, o adsorbido en, la bicapa de liposomas del liposoma. El compuesto de la presente invención puede agregarse con un surfactante lipídico y transportarse dentro del espacio interno del liposoma; en estos casos, la membrana del liposoma está formulada para resistir los efectos perturbadores del agente activo y el agregado de surfactante.

10 De acuerdo con una realización de la presente invención, la bicapa lipídica de un liposoma contiene lípidos derivados con polietilenglicol (PEG), de manera que las cadenas de PEG se extienden desde la superficie interna de la bicapa lipídica hacia el espacio interior encapsulado por el liposoma, y se extienden desde el exterior de la bicapa lipídica al entorno circundante.

15 Los agentes activos contenidos en los liposomas de la presente invención están en forma solubilizada. Los agregados de surfactante y agente activo (como emulsiones o micelas que contienen el agente activo de interés) pueden quedar atrapados dentro del espacio interior de los liposomas de acuerdo con la presente invención. Un surfactante actúa para dispersar y solubilizar el agente activo, y puede seleccionarse de cualquier surfactante alifático, cicloalifático o aromático adecuado, que incluye, entre otros, lisofosfatidilcolinas (LPC) biocompatibles de diferentes cadenas (por ejemplo, de aproximadamente C_{14} a alrededor de C_{20}). Los lípidos derivados de polímeros, como los lípidos PEG, también se pueden utilizar para la formación de micelas, ya que actuarán para inhibir la fusión de la micela/membrana, y como la adición de un polímero a las moléculas de surfactante disminuye la CMC del surfactante y ayuda en la formación de la micela. Se prefieren los surfactantes con CMC en el intervalo micromolar; los surfactantes CMC superiores pueden utilizarse para preparar micelas atrapadas dentro de los liposomas de la presente invención, sin embargo, los monómeros surfactantes micelares podrían afectar la estabilidad de la bicapa del liposoma y serían un factor en el diseño de un liposoma de una estabilidad deseada.

20

25

Los liposomas de acuerdo con la presente invención se pueden preparar por cualquiera de una variedad de técnicas que se conocen en el arte. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. No. 4.235.871; Solicitudes PCT publicadas WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), pages 33-104; Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993.

30 Por ejemplo, los liposomas de la presente invención se pueden preparar difundiendo un lípido derivado con un polímero hidrófilo en liposomas preformados, como exponiendo los liposomas preformados a micelas compuestas de polímeros injertados en lípidos, en concentraciones de lípidos correspondientes al porcentaje en moles final del lípido derivado que se desea en el liposoma. Los liposomas que contienen un polímero hidrófilo también pueden formarse por homogeneización, hidratación del campo lipídico o técnicas de extrusión, como se conoce en la técnica.

35 En un aspecto de la presente invención, los liposomas se preparan para tener tamaños sustancialmente homogéneos en un intervalo de tamaño seleccionado. Un método de tamaño efectivo consiste en extrudir una suspensión acuosa de los liposomas a través de una serie de membranas de policarbonato que tienen un tamaño de poro uniforme seleccionado; el tamaño de los poros de la membrana se corresponderá aproximadamente con los tamaños más grandes de liposomas producidos por extrusión a través de esa membrana. Véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. No. 4.737.323 (12 de abril de 1988).

40

Las características de liberación de una formulación de la presente invención dependen del material de encapsulación, la concentración de fármaco encapsulado y la presencia de modificadores de liberación. Por ejemplo, la liberación puede manipularse para depender del pH, por ejemplo, usando un recubrimiento sensible al pH que se libera solo a un pH bajo, como en el estómago, o un pH más alto, como en el intestino. Se puede usar un recubrimiento entérico para evitar que se produzca la liberación hasta después del paso a través del estómago. Se pueden usar múltiples recubrimientos o mezclas de cianamida encapsulada en diferentes materiales para obtener una liberación inicial en el estómago, seguida de una liberación posterior en el intestino. La liberación también puede manipularse mediante la inclusión de sales o agentes formadores de poros, que pueden aumentar la absorción de agua o la liberación del fármaco por difusión desde la cápsula. Los excipientes que modifican la solubilidad del fármaco también pueden usarse para controlar la tasa de liberación. También se pueden incorporar agentes que mejoran la degradación de la matriz o la liberación de la matriz. Pueden agregarse al fármaco, agregarse como una fase separada (es decir, como partículas), o pueden disolverse en la fase del polímero en función del compuesto. En todos los casos, la cantidad debe estar entre 0.1 y treinta por ciento (p/p de polímero). Los tipos de potenciadores de la degradación incluyen sales inorgánicas tales como sulfato de amonio y cloruro de amonio, ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácido benzoico y ácido ascórbico, bases inorgánicas tales como carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de zinc e hidróxido de zinc, y bases orgánicas como sulfato de protamina, espermina, colina,

45

50

55

etanolamina, dietanolamina y trietanolamina y surfactantes como Tween® y Pluronic®. Los agentes formadores de poros que agregan microestructura a las matrices (es decir, compuestos solubles en agua tales como sales inorgánicas y azúcares) se agregan como partículas. El rango debe estar entre el uno y el treinta por ciento (p/p de polímero).

- 5 La captación también puede manipularse alterando el tiempo de residencia de las partículas en el intestino. Esto se puede lograr, por ejemplo, recubriendo la partícula con, o seleccionando como material de encapsulación, un polímero adhesivo para la mucosa. Los ejemplos incluyen la mayoría de los polímeros con grupos carboxilo libres, tales como quitosán, celulosa y especialmente poliacrilatos (como se usa en este documento, poliacrilatos se refiere a polímeros que incluyen grupos acrilato y grupos acrilato modificados tales como cianoacrilatos y metacrilatos).

Combinaciones farmacéuticas

- 10 La invención se refiere especialmente a un compuesto de la fórmula I (o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I) para uso en el tratamiento de una o más de las enfermedades mencionadas en el presente documento; en donde la respuesta al tratamiento es beneficiosa como se demuestra, por ejemplo, por la eliminación parcial o completa de uno o más de los síntomas de la enfermedad hasta la curación completa o la remisión.

- 15 Un compuesto de fórmula (I) también se puede usar en combinación con los siguientes compuestos y conjugados anticuerpo-fármaco:

Inhibidores de BCR-ABL: Imatinib (Gleevec®); Clorhidrato de inilotinib; Nilotinib (Tasigna®); Dasatinib (BMS-345825); Bosutinib (SKI-606); Ponatinib (AP24534); Bafetinib (INNO406); Danusertib (PHA-739358), AT9283 (CAS 1133385-83-7); Saracatinib (AZD0530); y N-[2-[(1S, 4R)-6-[[4-(Ciclobutilamino)-5-(trifluorometil)-2-pirimidinil] amino]-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1,4- imin-9-il]-2-oxoetil]-acetamida (PF-03814735, CAS 942487-16-3); y LGX818.

- 20 Inhibidores de ALK: PF-2341066 (XALKORI®; crizotinib); 5-cloro-N4-(2-(isopropilsulfonyl) fenil)-N2-(2-metoxi-4-(4-(4-metilpiperazin-1-il) piperidin-1-il) fenil)pirimidin-2,4- diamina GSK1838705A; y CH5424802.

Inhibidores de BRAF: Vemurafanib (PLX4032); y Dabrafenib.

- 25 Inhibidores de FLT3: malato de sunitinib (vendido con el nombre comercial Sutent® por Pfizer); y PKC412 (midostaurina).

Inhibidores de MEK - trametinib.

- 30 Inhibidores del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): Bevacizumab (vendido bajo la marca registrada Avastin® por Genentech/Roche), axitinib, (N-metil-2-[[3-[(E)-2-piridin-2-iletenuil]-1H-indazol-6-il] sulfanil] benzamida, también conocida como AG013736, y descrita en la publicación PCT No. WO 01/002369), Brivanib Alaninate ((S)-((R)-1-(4-(4 -Fluoro-2-metil-1H-indol-5-iloxi)-5-metilpirrolo [2,1-f] [1,2,4] triazin-6-iloxi) propan-2-il) 2-aminopropanoato, también conocido como BMS-582664), motesanib (N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinilmetil) amino]-3-piridinacarboxamida, y se describen en la publicación PCT No. WO 02/066470), pasireotide (también conocida como SOM230, y descrita en la publicación PCT No. WO 02/010192), sorafenib (vendida bajo el nombre comercial Nexavar®);

- 35 Inhibidores del receptor HER2: Trastuzumab (vendido bajo la marca registrada Herceptin® por Genentech/Roche), neratinib (también conocido como HKI-272, (2E)-N-[4-[[3-cloro-4-[(piridin-2- il) metoxi] fenil] amino]-3-ciano-7-etoxiquinolin-6-il]-4-(dimetilamino) but-2-enamida, y en la publicación PCT No. WO 05/028443), lapatinib o lapatinib ditosilato (vendido bajo la marca comercial Tykerb® por GlaxoSmithKline); Trastuzumab emtansina (en los Estados Unidos, ado-trastuzumab emtansina, nombre comercial Kadcyla) - un conjugado anticuerpo-fármaco que consiste en el anticuerpo monoclonal trastuzumab (Herceptin) enlazado al agente citotóxico mertansina (DM1);

- 40 Anticuerpos CD20: Rituximab (vendido bajo las marcas comerciales Riuxan® y MabThera® por Genentech/Roche), tositumomab (vendido bajo las marcas comerciales Bexxar® por GlaxoSmithKline), ofatumumab (vendido bajo la marca comercial Arzerra® por GlaxoSmithKline);

- 45 Inhibidores de la tirosina quinasa: clorhidrato de erlotinib (vendido bajo la marca comercial Tarceva® por Genentech/Roche), Linifanib (N-[4-(3-amino-1H-indazol-4-il) fenil]-N'-(2-fluoro- 5-metilfenil) urea, también conocida como ABT 869, disponible de Genentech), malato de sunitinib (vendido bajo el nombre comercial Sutent® por Pfizer), bosutinib (4-[[2,4-dicloro-5-metoxifenil] amino]-6 -metoxi-7-[3-(4-metilpiperazin-1-il) propoxi] quinolina-3-carbonitrilo, también conocido como SKI-606, y descrito en la Patente de EE. UU. No. 6.780.996), dasatinib (vendido con el nombre comercial Sprycel® por Bristol-Myers Squibb), armala (también conocido como pazopanib, vendido bajo el nombre comercial Votrient® por GlaxoSmithKline), imatinib y mesilato de imatinib (vendido bajo los nombres comerciales Gilvec® y Gleevec® por Novartis);

- 50

Inhibidores de la síntesis de ADN: capecitabina (vendida bajo la marca registrada Xeloda® por Roche), clorhidrato de gemcitabina (vendida bajo la marca registrada Gemzar® por Eli Lilly and Company), nelarabina ((2R, 3S, 4R, 5R)-2-(2-amino -6-metoxi-purin-9-il)-5-(hidroximetil)oxolano-3,4-diol, vendido con los nombres comerciales Arranon® y Atriance® por GlaxoSmithKline);

- 5 Agentes antineoplásicos: oxaliplatino (vendido con el nombre comercial Eloxatin® ay Sanofi-Aventis y descrito en la Patente de EE. UU. No. 4.169.846);

10 Inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR): Gefitinib (vendido con el nombre comercial Iressa®), N-[4-[(3-Cloro-4-fluorofenil) amino]-7-[[[(3 "S")- tetrahidro 3-furanil] oxi]-6-quinazolinil]-4 (dimetilamino)-2-butenamida, vendida bajo el nombre comercial Tovok® por Boehringer Ingelheim), cetuximab (vendido bajo el nombre comercial Erbitux® por Bristol-Myers Squibb), panitumumab (vendido bajo el nombre comercial Vectibix® by Amgen);

Inhibidores de dimerización de HER: Pertuzumab (vendido bajo la marca registrada Omnitarg®, por Genentech);

Moduladores del factor estimulante de colonias de granulocitos humanos (G-CSF): Filgrastim (vendido bajo el nombre comercial Neupogen® por Amgen);

15 Inmunomoduladores: Afutuzumab (disponible de Roche®), pegfilgrastim (vendido bajo el nombre comercial Neulasta® por Amgen), lenalidomida (también conocido como CC-5013, vendido bajo el nombre comercial Revlimid®), talidomida (vendido bajo el nombre comercial Thalomid®);

Inhibidores de CD40: Dacetuzumab (también conocido como SGN-40 o huS2C6, disponible en Seattle Genetics, Inc);

Agonistas del receptor proapoptótico (PARA): Dulanermin (también conocido como AMG-951, disponible de Amgen/Genentech);

20 Antagonistas de Hedgehog: 2-cloro-N-[4-cloro-3-(2-piridinil) fenil]-4-(metilsulfonil) benzamida (también conocida como GDC-0449, y descrita en la publicación PCT No. WO 06/028958);

25 Inhibidores de PI3K: 4-[2-(1H-Indazol-4-il)-6-[[4-(metilsulfonil) piperazin-1-il] metil] tieno [3,2-d] pirimidin-4-il] morfolina (también conocido como GDC 0941 y descrito en las publicaciones PCT números WO 09/036082 y WO 09/055730), 2-Metil-2-[4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-ilo))-2,3-dihidroimidazo [4,5-c] quinolin-1-il] fenil] propionitrilo (también conocido como BEZ 235 o NVP-BEZ 235, y descrito en la publicación PCT No. WO 06/122806);

Inhibidores de la fosfolipasa A2: anagrelida (vendida bajo el nombre comercial Agrylin®);

Inhibidores de BCL-2: 4-[4-[[2-(4-clorofenil)-5,5-dimetil-1-ciclohexen-1-il] metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[[(1R)-3-(4-morfolinil)-1-[(feniltio) metil] propil] amino]-3-[(trifluorometil) sulfonil] fenil] sulfonil] benzamida (también conocido como ABT-263 y descrito en la publicación PCT No. WO 09/155386);

30 Inhibidores de la proteína quinasa quinasa activada por mitógenos (MEK): XL-518 (No. de Cas. 1029872-29-4, disponible en ACC Corp.);

Inhibidores de la aromatasas: exemestano (vendido bajo la marca registrada Aromasin® por Pfizer), letrozol (vendido bajo el nombre comercial Femara® por Novartis), anastrozol (vendido bajo el nombre comercial Arimidex®);

35 Inhibidores de la topoisomerasa I: Irinotecan (vendido bajo la marca registrada Camptosar® por Pfizer), clorhidrato de topotecán (vendido bajo el nombre comercial Hycamtin® por GlaxoSmithKline);

Inhibidores de la topoisomerasa II: etopósido (también conocido como VP-16 y fosfato de etopósido, vendido bajo los nombres comerciales Toposar®, VePesid® y Etopophos®), tenipósido (también conocido como VM-26, vendido bajo el nombre comercial Vumon®);

40 Inhibidores de mTOR: Temsirolimus (vendido bajo el nombre comercial Torisel® por Pfizer), ridaforolimus (formalmente conocido como deferolimus, (1R, 2R, 4S)-4-[(2R)-2 [(1R, 9S, 12R, 16E, 18R, 19R, 21R, 23S, 24E, 26E, 28Z, 30S, 32S, 35R)-1,18-dihidroxi-19,30-dimetoxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-2,3 , 10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-azatriciclo [30.3 .1.04,9] hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-il] propil]-2-metoxiciclohexil dimetilfosfinato, también conocido como AP23573 y MK8669, y descrito en la publicación PCT No. WO 03/064383), everolimus (vendido bajo el nombre comercial Afinitor® por Novartis);

45 Inhibidores osteoclásticos de la resorción ósea: monohidrato del ácido 1-hidroxi-2-imidazol-1-ilfosfonoetil) fosfónico (vendido con el nombre comercial Zometa® por Novartis);

- Conjugados de fármaco de anticuerpo CD33: Gemtuzumab ozogamicina (vendida con el nombre comercial Mylotarg® por Pfizer/Wyeth);
- Conjugados de fármaco de anticuerpo CD22: Inotuzumab ozogamicina (también conocida como CMC-544 y WAY-207294, disponible en Hangzhou Sage Chemical Co., Ltd.);
- 5 Conjugados de fármaco de anticuerpo CD20: Ibritumomab tiuxetan (vendido con el nombre comercial Zevalin®);
- Análogos de la somatostatina: octreotide (también conocido como acetato de octreotide, vendido bajo los nombres comerciales Sandostatin® y Sandostatin LAR®);
- Interleuquina-11 sintética (IL-11): oprelvekin (vendida con el nombre comercial Neumega® por Pfizer/Wyeth);
- Eritropoyetina sintética: Darbepoetin alfa (vendida bajo el nombre comercial Aranesp® por Amgen);
- 10 Inhibidor del activador del receptor para el factor nuclear κ B (RANK): Denosumab (vendido con el nombre comercial Prolia® por Amgen);
- Peptibodies miméticos de trombopoyetina: Romiplostim (vendido bajo el nombre comercial Nplate® por Amgen);
- Estimuladores del crecimiento celular: Palifermin (vendido con el nombre comercial Kepivance® por Amgen);
- 15 Anticuerpos del receptor del factor de crecimiento-1 como anti-insulina- (IGF-1R): Figitumumab (también conocido como CP-751,871, disponible de ACC Corp), robatumumab (número CAS 934235-44-6);
- Anticuerpos anti-CSI: Elotuzumab (HuLuc63, CAS No. 915296-00-3);
- Anticuerpos CD52: Alemtuzumab (vendido bajo el nombre comercial Campath®);
- 20 Inhibidores de CTLA-4: Tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible de Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206), ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9);
- Inhibidores de la histona desacetilasa (HDI): Voninostat (vendido bajo el nombre comercial Zolinza® por Merck);
- Agentes alquilantes: Temozolomida (vendida bajo los nombres comerciales Temodar® y Temodal® por Schering-Plough/Merck), dactinomicina (también conocida como actinomicina D y vendida bajo el nombre comercial Cosmegen®), melfalán (también conocido como L-PAM, L- sarcolisina y mostaza de fenilalanina, vendida bajo el nombre comercial Alkeran®), altretamina (también conocida como hexametilmelamina (HMM), vendida bajo el nombre comercial Hexalen®), carmustina (vendida bajo el nombre comercial BiCNU®), bendamustina (vendida bajo el nombre comercial Treanda®), busulfan (vendido bajo los nombres comerciales Busulfex® y Myleran®), carboplatino (vendido bajo el nombre comercial Paraplatin®), lomustine (también conocido como CCNU, vendido bajo el nombre comercial CeeNU®), cisplatino (también conocido como CDDP, vendido bajo el nombre comercial CeeNU®) Platinol® y Platinol®-AQ), clorambucil (vendido bajo el nombre comercial Leukeran®), ciclofosfamida (vendido bajo los nombres comerciales Cytosan® y Neosar®), dacarbazina (también conocida como DTIC, DIC e imidazol carboxamida, comercializada bajo el nombre comercial DTIC -Dome®), altretamina (una También conocida como hexametilmelamina (HMM) vendida bajo el nombre comercial Hexalen®, ifosfamida (vendida bajo el nombre comercial Ifex®), procarbazona (vendida bajo el nombre comercial Matulane®), mecloroetamina (también conocida como mostaza nitrogenada, mustina y clorhidrato de mecloroetamina), vendida bajo el nombre comercial Mustargen®), estreptozocina (vendida bajo el nombre comercial Zanosar®), tiotepa (también conocida como tiosfosfoamida, TESSA y TSPA, vendida bajo el nombre comercial Thioplex®);
- 30
- 35 Modificadores de la respuesta biológica: bacilo calmette-guerin (vendido bajo los nombres comerciales theraCys® y TICE® BCG), denileuquina diftitox (vendido bajo el nombre comercial Ontak®);
- 40 Antibióticos antitumorales: doxorubicina (vendida bajo los nombres comerciales Adriamycin® y Rubex®), bleomicina (vendida bajo el nombre comercial lenoxane®), daunorubicina (también conocida como clorhidrato de dauorubicina, daunomicina y clorhidrato de rubidomicina, vendida bajo el nombre comercial Cerubidine®), daunorubicina liposomal (liposoma de citrato de daunorubicina, comercializada con el nombre comercial DaunoXome®), mitoxantrona (también conocida como DHAD, comercializada con el nombre comercial Novantrone®), epirubicina (comercializada con el nombre comercial Ellence™), idarubicina (comercializada con el nombre comercial Idyubycin®). PFS®), mitomicina C (vendida bajo el nombre comercial de Mutamycin®);
- 45 Agentes anti-microtúbulos: Estramustina (vendida bajo el nombre comercial Emcyl®);

Inhibidores de la catepsina K: Odanacatib (también conocido como MK-0822, N-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N2 - {(1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(metilsulfonyl) bifenilo-4-il] etil} -L-leuquinamida, disponible de Lanzhou Chon Chemicals, ACC Corp. y ChemieTek, y se describe en la publicación PCT No. WO 03/075836);

Análogos de la epotilona B: Ixabepilona (vendida bajo el nombre comercial Lxemptra® por Bristol-Myers Squibb);

- 5 Inhibidores de la proteína de choque térmico (HSP): Tanespimicina (17-alilamino-17-demetoxigeldanamicina, también conocida como KOS-953 y 17-AAG, disponible en SIGMA y descrita en la Patente de EE. UU. No. 4,261,989);

Agonistas de TpoR: Eltrombopag (vendidos con los nombres comerciales Promacta® y Revolade® por Glaxo SmithKline);

Agentes antimetabólicos: Docetaxel (vendido bajo el nombre comercial Taxotere® por Sanofi-Aventis);

- 10 Inhibidores de esteroides suprarrenales: aminoglutetimida (vendida bajo el nombre comercial Cytadren®);

Antiandrógenos: nilutamida (vendida bajo los nombres comerciales Nilandron® y Anandron®), bicalutamida (vendida bajo el nombre comercial Casodex®), flutamida (vendida bajo el nombre comercial Fulexin™);

Andrógenos: fluoximesterona (vendida con el nombre comercial Halotestin®);

Inhibidores del proteasoma: Bortezomib (vendido con el nombre comercial Velcade®);

- 15 Inhibidores de CDK1: Alvocidib (también conocido como flovopirdol o HMR-1275, 2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-[(3S, 4R)-3-hidroxi-1-metil-4-piperidinilo]-4-cromenona, y se describe en la Patente de Estados Unidos No. 5.621.002);

Agonistas del receptor de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH): Leuprolide o acetato de leuprolide (vendido con los nombres comerciales Viadure® por Bayer AG, Eligard® por Sanofi-Aventis y Lupron® por Abbott Lab);

- 20 Agentes antineoplásicos de taxano: cabazitaxel (1-hidroxi-7β, 10β-dimetoxi-9-oxo-5β, 20-epoxytax-11-eno-2α,4,13α-triil-4-acetato-2-benzoato-13-[(2R, 3S)-3-[(tert-butoxi) carbonil] amino]-2-hidroxi-3-fenilpropanoato), larotaxel ((2α, 3ξ, 4α, 5β, 7α, 10β, 13α)-4,10-bis (acetiloxi)-13-[(2R, 3S)-3-[(tert-butoxicarbonil) amino]-2-hidroxi-3-fenilpropanoil] oxi)-1-hidroxi-9-oxo-5,20 -epoxi-7,19-ciclotax-11-en-2-ilbenzoato);

Agonistas del receptor 5HT1a: Xaliproden (también conocido como SR57746, 1-[2-(2-naftil) etil]-4-[3-(trifluorometil) fenil]-1,2,3,6-tetrahidropiridina, y se describe en la patente de EE. UU. No. 5.266.573);

- 25 Vacunas HPC: Cervarix® vendida por GlaxoSmithKline, Gardasil® vendida por Merck;

Agentes quelantes de hierro: Deferasinox (vendido bajo el nombre comercial Exjade® por Novartis);

- 30 Anti-metabolitos: Claribine (2-clorodesoxiadenosin, vendido bajo el nombre comercial leustatin®), 5-fluorouracil (vendido bajo el nombre comercial Aduvici®), 6-tioguanine (vendido bajo el nombre comercial Purinethol®), pemetrexed (vendido bajo el nombre comercial Alimta®), citarabina (también conocida como arabinosilcitosina (Ara-C), vendida con el nombre comercial Cytosar-U®), citarabina liposomal (también conocida como Liposomal Ara-C, vendida bajo el nombre comercial DepoCyt™), decitabina (vendida bajo el nombre comercial Dacogen®), hidroxiurea (vendida bajo los nombres comerciales Hydrea®, Droxia™ y Mylocel™), fludarabina (vendida bajo el nombre comercial Fludara®), floxuridina (vendida bajo el nombre comercial FUDR®), cladribina (también conocida como 2-clorodesoxiadenosina (2- CdA) vendido bajo el nombre comercial Leustatin™, metotrexato (también conocido como ametofterina, metotrexato de sodio (MTX), vendido bajo los nombres comerciales Rheumatrex® y Trexall™), pentostatin (vendido bajo el nombre comercial Nipent®);

Bifosfonatos: Pamidronato (vendido bajo el nombre comercial Aredia®), ácido zoledrónico (vendido bajo el nombre comercial Zometa®);

- 40 Agentes desmetilantes: 5-azacitidina (vendida bajo el nombre comercial Vidaza®), decitabina (vendida bajo el nombre comercial Dacogen®);

- 45 Alcaloides vegetales: Paclitaxel unido a proteínas (vendido bajo el nombre comercial Abraxane®), vinblastina (también conocido como vinblastina sulfato, vincaléukoblastina y VLB, vendido bajo los nombres comerciales Alkaban-AQ® y Velban®), vincristina (también conocido como sulfato de vincristina, LCR y VCR, vendidos bajo los nombres comerciales Oncovin® y Vincasar Pfs®), vinorelbina (vendido bajo el nombre comercial Navelbine®), paclitaxel (vendido bajo los nombres comerciales Taxol y Onxal™);

Retinoides: Alitretinoína (vendida bajo el nombre comercial Panretin®), tretinoína (ácido retinoico todo trans, también conocido como ATRA, vendido bajo el nombre comercial Vesanoide®), Isotretinoína (ácido 13-cis-retinoico, vendido

bajo el nombre comercial Accutane®, Amnesteem®, Claravis®, Claras®, Decutan®, Isotane®, Izotech®, Oratane®, Isotret® y Sotret®), bexaroteno (vendido bajo el nombre comercial de Targretin®);

5 Glucocorticosteroides: hidrocortisona (también conocida como cortisona, succinato sódico de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona y se vende con los nombres comerciales Ala-Cort®, fosfato de hidrocortisona, Solu-Cortef®, Hydrocort Acetate® y Lanacort®), dexametazona ((8S, 9) 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahidro-3H-ciclopenta[a]fenantren-3-ona), prednisolona (vendida bajo los nombres comerciales Delta-Cortel®, Orapred®, PEDIAPRED® y Prelone®), prednisona (se vende con los nombres comerciales Deltasone®, Liquid Red®, Meticorten® y Orasone®), metilprednisolona (también conocida como 6-metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, metilprednisolona succinato de sodio, comercializada con los nombres Duralone®, Medralone®, Medrol®, Prednisol® y Solu-Medrol®);

10

Citoquinas: interleuquina-2 (también conocida como aldesleuquina e IL-2, vendida bajo el nombre comercial Proleukin®), interleuquina-11 (también conocida como oprevelkin, vendida bajo el nombre comercial Neumega®), alfa interferón alfa (también conocida como IFN-alfa, vendido bajo los nombres comerciales Intron® A y Roferon-A®);

Reguladores del receptor de estrógeno: Fulvestrant (vendido con el nombre comercial Faslodex®);

15 Antiestrogénico: tamoxifeno (vendido con el nombre comercial Nolvadex®);

Toremifeno (vendido bajo el nombre comercial Fareston®);

Moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM, por sus siglas en inglés): raloxifeno (vendido con el nombre comercial Evista®);

20 Agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH, por sus siglas en inglés): goserelina (vendida con el nombre comercial Zoladex®);

Progesteronas: megestrol (también conocido como acetato de megestrol, vendido con el nombre comercial Megace®);

Agentes citotóxicos diversos: trióxido de arsénico (vendido bajo el nombre comercial Trisenox®), asparaginasa (también conocido como L-asparaginasa, Erwinia L-asparaginasa, vendido bajo los nombres comerciales Elspar® y Kidrolase®);

25 Un compuesto de fórmula (I) también se puede usar en combinación con las siguientes terapias adjuntas:

Medicamentos contra las náuseas: antagonistas del receptor NK-1: Casopitant (vendido con los nombres comerciales Rezonix® y Zunrisa® por GlaxoSmithKline); y

Agentes citoprotectores: amifostina (vendida con el nombre comercial Ethyol®), leucovorina (también conocida como leucovorina cálcica, factor citrovorum y ácido folínico).

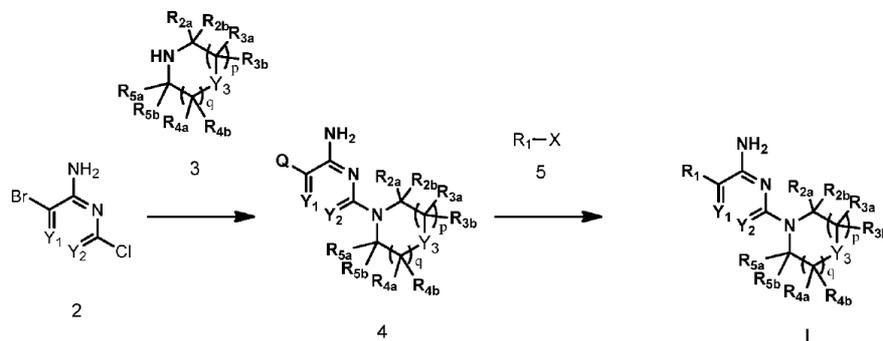
30 Procesos para hacer compuestos de la invención

La presente invención también describe procedimientos para la preparación de compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxi, cuando se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores convencionales se pueden usar de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene and P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

35

Los compuestos de Fórmula I, se pueden preparar siguiendo el siguiente Esquema de reacción I:

Esquema de Reacción I:



en el que p, q, n, Y₁, Y₂, Y₃, X, R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a} y R_{5b} son como se definen para la Fórmula I en el Resumen de la Invención y Q es un halógeno (como bromo) o un el tiol, boronato o estannato que reacciona con un halógeno en los compuestos 5. El compuesto 4 se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto 2 con el

- 5 compuesto 3 a través de una reacción bajo condiciones adecuadas de ácido o base en presencia o ausencia de un metal de transición a temperatura ambiente, o bajo condiciones térmicas o de microondas. Alternativamente, el halógeno del compuesto 2 puede reemplazarse por otros halógenos o grupos activadores adecuados, tales como triflatos, mesilatos, tosilatos, nonaflatos, boronatos, organoestannanos, organosililos, organozincs, litio, magnesio y similares.
- 10 Un compuesto de fórmula I puede prepararse haciendo reaccionar el compuesto 4 con un asociado de acoplamiento adecuado (por ejemplo, compuesto 5) dependiendo de X. Por ejemplo, el compuesto 5 se muestra en el esquema de reacción I como un grupo fenilo sustituido enlazado a través de X. Alternativamente, el compuesto 5 podría ser aril-alcohol, aril-tio, aril-boronato, aril-estannato, heteroaril-alcohol, aril-tiol, heteroaril-tiol, aril-boronato, aril-estano, olefina u otros aril-metales o heteroaril-metales, y similares. Los asociados de acoplamiento también pueden ser
- 15 sustituidos. Esta reacción se puede llevar a cabo en condiciones adecuadas de ácido o base, en presencia o ausencia de un metal de transición tal como paladio, a temperatura ambiente o en condiciones térmicas o de microondas. Se pueden usar otros halógenos o grupos activadores adecuados (por ejemplo, triflatos, mesilatos, tosilatos y nonaflatos) en lugar de Br para estas transformaciones.

- 20 Alternativamente, los asociados de acoplamiento podrían revertirse y el compuesto 2 se puede derivar a estannano, boronato, organo-zinc, organo-litio, organo-magnesio, organosilicio, organo-cuprato y acoplarse con un haluro de arilo adecuado, haluro de heteroarilo, olefina o grupo funcional reactivo adecuado (por ejemplo, triflatos, mesilatos, tosilatos y nonaflatos), y similares.

- 25 Estas reacciones pueden llevarse a cabo en el orden descrito o en orden inverso, bajo una variedad de solventes, temperaturas, presiones y bajo atmósferas adecuadas. Las reacciones pueden llevarse a cabo bajo condiciones de ácido, base y/o metales de transición.

Se pueden encontrar ejemplos detallados de la síntesis de compuestos de Fórmula I en los Ejemplos, *infra*.

Procesos adicionales para hacer compuestos de la invención

- 30 Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención puede prepararse haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable.

- 35 Los compuestos de la fórmula I también pueden modificarse agregando funcionalidades apropiadas para mejorar las propiedades biológicas selectivas. Las modificaciones de este tipo son conocidas en la técnica e incluyen aquellas que aumentan la penetración en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central, testículos), aumentan la biodisponibilidad, aumentan la solubilidad para permitir la administración parenteral (por ejemplo, inyección, infusión), alteran el metabolismo y/o alteran la tasa de secreción. Ejemplos de este tipo de modificaciones incluyen, entre otros, la esterificación, por ejemplo con polietilenglicoles, derivación con pivaloiloxi o sustituyentes de ácidos grasos, conversión a carbamatos, hidroxilación de anillos aromáticos y sustitución de
- 40 heteroátomos en anillos aromáticos. Cuando se mencionan compuestos de la fórmula I y/o N-óxidos, tautómeros y/o

sales (preferiblemente farmacéuticamente aceptables) de los mismos, esto comprende tales fórmulas modificadas, mientras que se entienden preferiblemente las moléculas de la fórmula I, sus N-óxidos, sus tautómeros y/o sus sales.

- Alternativamente, las formas de sal de los compuestos de la invención se pueden preparar usando sales de los materiales de partida o intermedios. En vista de la estrecha relación entre los nuevos compuestos de la fórmula I en forma libre y aquellos en forma de sus sales, incluidas aquellas sales que se pueden usar como intermedios, por ejemplo en la purificación o identificación de los nuevos compuestos, cualquier referencia para los compuestos o un compuesto de la fórmula I anterior y en lo sucesivo, se entenderá que se refiere al compuesto en forma libre y/o también a una o más sales de los mismos, según sea apropiado y conveniente, así como a uno o más solvatos, por ejemplo hidratos
- 5 Las sales se forman, por ejemplo, como sales de adición de ácido, preferiblemente con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de compuestos de fórmula I con un átomo de nitrógeno básico, especialmente las sales farmacéuticamente aceptables. Los ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos halógenos, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos carboxílico, fosfónico, sulfónico o sulfámico, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido malónico, ácido adípico ácido, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metano o etano-sulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido etano-1,2-
- 10 disulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-toluensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido 2-o 3-metilbencenosulfónico, ácido metilsulfúrico, ácido etilsulfúrico, ácido dodecilsulfúrico, ácido N-ciclohexilsulfámico, ácido N-metilo, N-etil o N-propilsulfámico u otros ácidos protónicos orgánicos, tal como ácido ascórbico.
- 15 Para propósitos de aislamiento o purificación, también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo picratos o percloratos. Para uso terapéutico, solo se emplean sales farmacéuticamente aceptables o compuestos libres (cuando sea aplicable en forma de preparaciones farmacéuticas), y por lo tanto se prefieren.
- 20 Las formas de ácido libre o base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la forma de sal de adición de base correspondiente o la sal de adición de ácido, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir en la base libre correspondiente mediante el tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio y similares).
- 25 Un compuesto de la invención en forma de sal de adición de base se puede convertir en el ácido libre correspondiente mediante el tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).
- 30 Los compuestos de la invención en forma no oxidada se pueden preparar a partir de N-óxidos de los compuestos de la invención por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) a una temperatura de 0 a 80 °C.
- 35 Los derivados profármacos de los compuestos de la invención se pueden preparar por métodos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo para más detalles, véase Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, pág. 1985). Por ejemplo, los profármacos apropiados pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto no derivado de la invención con un agente de carbamilación adecuado (por ejemplo, 1,1-aciloxialquilcarbonocloridato, para-nitrofenil carbonato, o similares).
- 40 Los derivados protegidos de los compuestos de la invención pueden prepararse por medios conocidos por los expertos en la técnica. Una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación se puede encontrar en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", tercera edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.
- 45 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente por recristalización a partir de una mezcla de disolvente acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.
- 50 Los compuestos de la invención pueden prepararse como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisómeros, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de los enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas).

Los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereómeros se pueden separar por cromatografía, o preferiblemente, por técnicas de separación/resolución basadas en diferencias en la solubilidad. El enantiómero ópticamente puro se recupera, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no dé lugar a la racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de los estereoisómeros de compuestos de su mezcla racémica se puede encontrar en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

En resumen, los compuestos de Fórmula I pueden elaborarse mediante un proceso, que implica:

- (a) la del esquema de reacción I; y
- 10 (b) convertir opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
- (c) convertir opcionalmente una forma de sal de un compuesto de la invención en una forma no salina;
- (d) convertir opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
- (e) opcionalmente convertir una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;
- 15 (f) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;
- (g) convertir opcionalmente un compuesto no derivado de la invención en un derivado profármaco farmacéuticamente aceptable; y
- (h) convertir opcionalmente un derivado profármaco de un compuesto de la invención en su forma no derivada.

En la medida en que la producción de los materiales de partida no está particularmente descrita, los compuestos son conocidos o pueden prepararse de manera análoga a los métodos conocidos en la técnica o como se divulga en los Ejemplos a continuación.

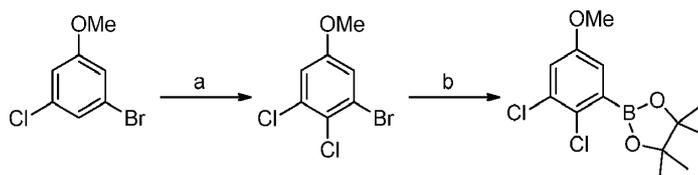
Un experto en la técnica apreciará que las transformaciones anteriores son solo representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que se pueden usar de manera similar otros métodos bien conocidos.

25 Ejemplos

Los siguientes ejemplos e intermedios sirven para ilustrar la invención sin limitar su alcance. Algunas abreviaturas utilizadas en los ejemplos son las siguientes: ácido acético (AcOH); trietilamina (TEA); tetrahidrofurano (THF); acuoso (ac.); atmósfera (atm.); 2,2'-bis-difenilfosfanil-[1,1']binaftalenilo (BINAP); 4-dimetilaminopiridina (DMAP); tert-butoxicarbonilo (Boc); 1,1-carbonildiimidazol (CDI); dicarbonato de di-tert-butilo (BOC₂O); hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio (BOP); diclorometano (DCM); éter dietílico (Et₂O); ácido p-tolueno sulfónico (PTSA); acetato de etilo (EtOAc); etanol (EtOH); bis(trimetilsilil) amida de litio (LHMDS); azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD); N,N-diisopropil-etilamina (DIEA o DIPEA); N,N-dimetilformamida (DMF); dimetilsulfóxido (DMSO); difenilfosforil azida (DPPA); hora(s) (h); Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU); Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC); hidruro de litio y aluminio (LAH); cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas (LCMS); diisopropilamida de litio (LDA); metanol (MeOH); mililitro(s) (mL); minuto(s) (min); microondas (MW); n-butil-litio (n-BuLi); 1,1-bis(difenilfosfino)-ferrocenodichloropaladio (II) (PdCl₂ (dppf)); tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (Pd₂(dba)₃); diclorobis (trifenilfosfina) paladio (II) (PdCl₂(PPh₃)₂); temperatura ambiente (RT); ácido trifluoroacético (TFA); tetrahidrofurano (THF); cromatografía en capa fina (TLC); tiempo de retención (t_R); y 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (Xantophos).

40 Intermedio 1

2-(2,3-dicloro-5-metoxifenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano.

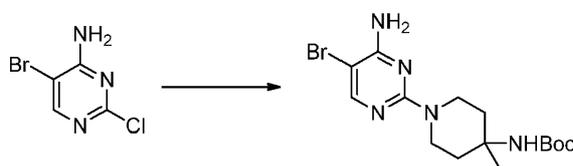


Etapa a: Una solución de 1-bromo-3-cloro-5-metoxibenceno (835 mg, 3,77 mmol) y 1,3,5-tricloro-1,3,5-triazinano-2,4,6-triona (299 mg, 1,29 mmol) en DMF (18 ml) se agitó 16 h bajo N₂ y 50 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con SO₄Cl acuoso y se extrajo con Et₂O. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 25%) a 1-bromo-2,3-dicloro-5-metoxibenceno (720 mg, 2,81 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.14 (d, *J*=2.76 Hz, 1 H), 7.01 (d, *J*=3.01 Hz, 1 H), 3.81 (s, 3 H).

Etapa b: Una suspensión de 1-bromo-2,3-dicloro-5-metoxibenceno (710 mg, 2,77 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (775 mg, 3,05 mmol), acetato de potasio (817 mg, 8,32 mmol) y PdCl₂ (dppf) (101 mg, 0,139 mmol) en dioxano (5,5 ml) se agitó en un reactor de microondas durante 1 hora a 100 °C para dar el compuesto del título como solución en dioxano que se usó directamente en los acoplamientos Suzuki-Miyaura.

Intermedio 2

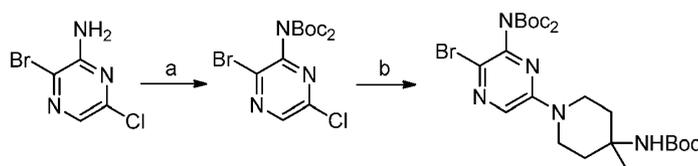
(1-(4-amino-5-bromopirimidin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo.



Una solución de 5-bromo-2-cloropirimidin-4-amina (650 mg, 3,12 mmol), (4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (835 mg, 3,90 mmol) y 4-metilmorfolina (411 μL, 3,74 mmol) en NMP (6,25 ml) se agitó en un reactor de microondas durante 90 minutos a 130°C. El residuo resultante se vertió en agua (100 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. El sólido formado se filtró y se secó bajo alto vacío durante 16 h para dar (1-(4-amino-5-bromopirimidin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (880 mg, 2,28 mmol). MS *m/z* 387.3 (M+H)⁺.

Intermedio 3

(3-bromo-6-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de tert-butilo

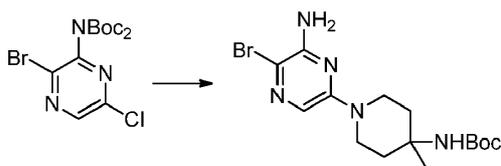


Etapa a: Una solución de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (10,0 g, 48,0 mmol), DMAP (2,99 g, 24,47 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (26,2 g, 120 mmol) en DCM (96 ml) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con salmuera y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 30%) para dar (3-bromo-6-cloropirazin-2-il)carbamato de tert-butilo (18,77 g, 45,9 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.36 (s, 1 H), 1.45 (s, 18 H).

Etapa b: Una solución de (3-bromo-6-cloropirazin-2-il)carbamato de tert-butilo (11,9 g, 29,1 mmol), (4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (12,48 g, 58,2 mmol), y 4-metilmorfolina (3,84 ml, 34,9 mmol) en NMP (58 ml) se agitó 16 h a 90°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (300 ml) y el sólido formado se filtró. Este sólido se purificó adicionalmente por cromatografía de sílica (0 a 30% de EtOAc/heptano (que contiene 0,25% v/v de Et₃N)) para dar (3-bromo-6-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de tert-butilo (80% de pureza). Este compuesto se purificó adicionalmente por cromatografía de sílica (0 a 7% de EtOAc/DCM (que contiene 0,25% v/v de Et₃N)) para dar (3-bromo-6-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de tert-butilo (7,02 g, 11,97 mmol). MS *m/z* 586.5 (M+H)⁺.

Intermedio 4

(1-(6-amino-5-bromopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo

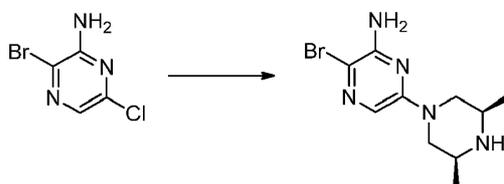


Una solución de (3-bromo-6-cloropirazin-2-il)carbamato de tert-butilo (8.184 g, 20.03 mmol), (4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (8.58 g, 40.1 mmol), y 4-metilmorfolina (2,64 ml, 24,03 mmol) en NMP (50 ml) se agitó 16 h a 150°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ acuoso y se extrajo con Et₂O. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 4 al 40%) para dar (1-(6-amino-5-bromopirazina) 2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (1.629 g, 4.01 mmol). MS *m/z* 388.0 (M+H)⁺.

Intermedio 5

3-bromo-6-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)pirazin-2-amina

10



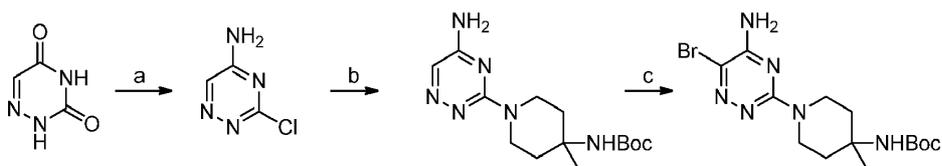
Una suspensión de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (250 mg, 1.199 mmol) y (2*S*, 6*R*)-2,6-dimetilpiperazina (151 mg, 1.319 mmol) en DIPEA (1.5 ml, 8.59 mmol) se agitó durante 16 horas a 130°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida, el sólido resultante se suspendió en H₂O, se filtró y el sólido se purificó adicionalmente mediante HPLC (gradiente de elución 35-60% de acetonitrilo en agua, modificador de SO₄OH 5 mM) para dar 3-bromo-6-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)pirazin-2-amina (40.0 mg, 0.140 mmol). MS *m/z* (M+H)⁺ 287.0.

15

Intermedio 6

(1-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo

20



Etapa a: Una solución de 6-azauracilo (1.0 g, 8.84 mmol), POCl₃ (10 ml, 107 mmol) y N, N-dimetilanilina (2 ml, 1.784 mmol) se agitó en un reactor de microondas durante 25 minutos a 90°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la reacción se vertió en un vaso de precipitados que contenía heptano (200 ml), se agitó durante 5 min a temperatura ambiente y las fases se separaron. Este procedimiento se repitió dos veces (200 ml de heptano cada una). Las fases de heptano se filtraron a través de una almohadilla de Celite y MgSO₄, los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se trató con SO₃ (7 N en MeOH, 5 ml en 10 ml de MeOH) preenfriado a 0 °C. La mezcla se agitó durante 5 min a temperatura ambiente y, a continuación, los compuestos volátiles se eliminaron para dar 3-cloro-1,2,4-triazin-5-amina (200 mg, 17.3% de rendimiento). Este compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

25

30

Etapa b: Una solución de 3-cloro-1,2,4-triazin-5-amina (165 mg, 1,264 mmol), (4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (271 mg, 1,264 mmol), y 4-metilmorfolina (208 μl, 1.896 mmol) en NMP (5 ml) se agitó en un reactor de microondas durante 3 horas a 130°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el residuo resultante se purificó por HPLC (gradiente de elución 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de SO₄OH 5 mM) para dar (1-(5-amino-1,2,4-triazin-3-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (71.0 mg, 0.23 mmol). MS *m/z* 308.4 (M+H)⁺.

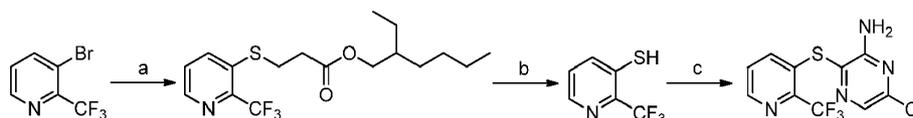
35

Etapa c: Una solución de (1-(5-amino-1,2,4-triazin-3-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (71 mg, 0,230 mmol) y NBS (41). mg, 0,230 mmol) en CHCl₃ (2 ml) se agitó 16 h a temperatura ambiente. Los compuestos volátiles

se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de MeOH del 0 al 5% (que contiene 1% de SO₃)/DCM) para dar (1-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (87 mg, 0,23 mmol). MS *m/z* 387.3 (M+H)⁺.

Intermedio 7

5 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina



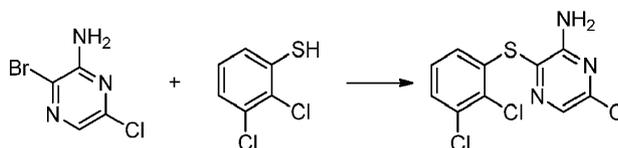
10 Etapa a: A una solución de 3-bromo-2-(trifluorometil)piridina (1.0 g, 4.42 mmol), XantPhos (256 mg, 0.442 mmol), Pd₂(dba)₃ (203 mg, 0.221 mmol) en dioxano (12 mL) se añadió (a TA y bajo N₂) 2-etilexil-3-mercaptopropanoato (1.1 mL, 4.87 mmol) seguido por la adición de DIPEA (1.55 mL, 8.85 mmol). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1 h a 110 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se filtró a través de una capa de Celite seguido de lavado con EtOAc (25 ml). Los filtrados combinados se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 30% de EtOAc/heptano) para dar 3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)propanoato de 2-etilexilo (1.41 g, 3.88 mmol). MS *m/z* 364.0 (M+H)⁺.

15 Etapa b: A una solución de 3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)propanoato de 2-etilexilo (1.0 g, 2.75 mmol) en THF (8 mL) se añadió a -78 °C y bajo N₂ tert-butóxido de potasio (1 M en THF, 8.25 mL, 8.25 mmol). Después de agitar vigorosamente a -78 °C durante 20 min, la reacción se detuvo con K₂CO₃ acuoso (2 M, 500 µL) y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se vertió en un embudo de separación que contenía K₂CO₃ acuoso (2 M, 30 mL) y se extrajo con Et₂O (2 x 20 mL). La fase acuosa se acidificó con HCl 6 M hasta pH 4 y la suspensión turbia resultante se extrajo con CHCl₃:IPA (9:1; 3 x 20 mL) para dar 2-(trifluorometil)piridin-3-tiol (380 mg, 2.12 mmol). MS *m/z* 180.0 (M+H)⁺.

25 Etapa c: A una solución de 2-(trifluorometil)piridin-3-tiol (285 mg, 1.591 mmol), 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (414 mg, 1.988 mmol), XantPhos (101 mg, 0.175 mmol), y Pd₂(dba)₃ (72.8 mg, 0.08 mmol) en dioxano (2 mL) se añadió (a TA y bajo N₂) DIPEA (556 µL, 3.18 mmol). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 h a 130 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido por lavado con EtOAc (25 mL). Los filtrados combinados se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 30% de EtOAc/heptano) para dar 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (1.41 g, 3.88 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.64 (dd, *J*=4.55, 1.26 Hz, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.82 (dd, *J*=8.08, 0.76 Hz, 1 H), 7.46 (dd, *J*=8.08, 4.80 Hz, 1 H); ¹⁹F RMN (376 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm -64.34 (s, 1 F). MS *m/z* 307.1 (M+H)⁺.

Intermedio 8

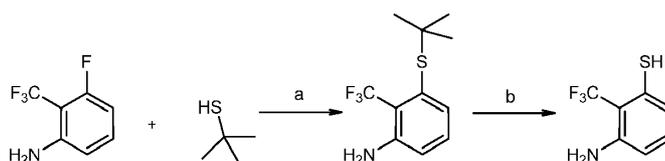
6-cloro-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina



35 Una mezcla de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (5.0 g, 23.99 mmol), 2,3-diclorobenzenotiol (6.44 g, 36.0 mmol), yoduro de cobre (I) (914 mg, 4.80 mmol), fosfato de potasio (10.18 g, 48.0 mmol), y 1,10-fenantrolina (1.73 mg, 9.59 mmol) en dioxano (50 mL, desgasificado) se agitó durante 16 h a 85 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido por lavado con EtOAc (50 mL). Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 25% de DCM/tolueno) para dar 6-cloro-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina (3.7 g, 12.07 mmol). MS *m/z* 306.0 (M+H)⁺.

Intermedio 9

3-amino-2-(trifluorometil)bencenotiol

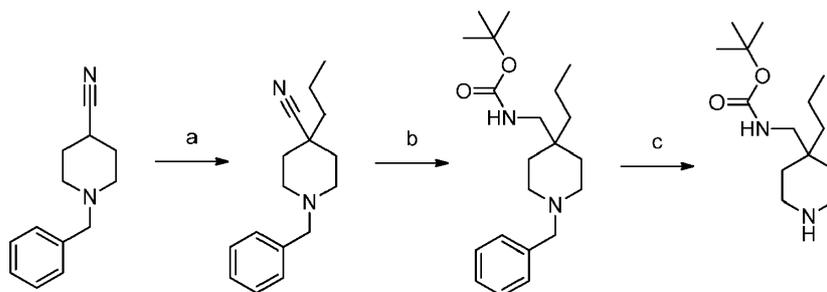


5 Etapa a: Una suspensión de 2-metilpropano-2-tiol (18.31 mL, 162 mmol), 3-fluoro-2-(trifluorometil)anilina (9.7 g, 54.1 mmol), y carbonato de cesio (5.29 g, 162 mmol) en DMF (100 mL) se agitó durante 14 h a 130 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y concentró para dar 3-(*tert*-butiltio)-2-(trifluorometil)anilina (12.5 g, 50.2 mmol). MS *m/z* 250.2 (M+H)⁺.

Etapa b: Una suspensión de 3-(*tert*-butiltio)-2-(trifluorometil)anilina (2.2 g, 8.82 mmol) en HCl concentrado (80 mL, 2.65 mol) se agitó durante 3 h a 85 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El sólido resultante se filtró, se lavó con EtOAc, y se secó bajo alto vacío a 40 °C para dar sal de HCl del compuesto del título. (1.02 g, 4.44 mmol). MS *m/z* 194.1 (M+H)⁺.

10 Intermedio 10

((4-propilpiperidin-4-il)metil)carbamato de *tert*-butilo



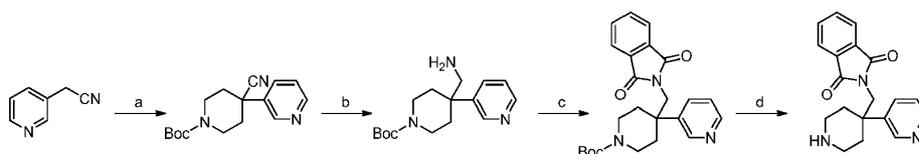
15 Etapa a: A una solución de N, N-diisopropilamina (14.0 ml, 97.5 mmol) en THF (100 ml) se agregó (a -78 °C y bajo N₂) n-butil-litio (1.6 M en hexano; 59.0 ml, 94.25 mmol) gota a gota. La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 1-bencilpiperidin-4-carbonitrilo (6,5 g, 32,5 mmol) en THF (50 ml) a -78 °C. Después de agitar durante 30 minutos a esta temperatura, se añadió yoduro de n-propilo (20,5 ml, 211,3 mmol). La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 h. La mezcla se inactivó mediante la adición de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para obtener 1-bencil-4-propilpiperidin-4-carbonitrilo (6.0 g, 24.8 mmol). Este compuesto se usó sin purificación adicional. MS *m/z* 243 (M+H)⁺.

25 Etapa b: A una suspensión de 1-bencil-4-propilpiperidin-4-carbonitrilo (1.0 g, 4.1 mmol) Boc₂O (2.84 mL, 12.4 mmol) y NiCl₂·6H₂O (0.195 g, 0.82 mmol) en MeOH (20 mL) se añadió a 0°C borohidruro de sodio (1,0 g, 28,9 mmol) en porciones. La mezcla resultante se agitó durante 12 h a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en DCM, se filtró a través de Celite y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (0 a 15% de EtOAc/heptano) para dar ((1-bencil-4-propilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo (0,8 g, 2,3 mmol). MS *m/z* 347 (M+H)⁺.

30 Etapa c: Una suspensión de ((1-bencil-4-propilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo (5.0 g, 14.4 mmol) y 10% de Pd/C (2 g) en MeOH (100 ml) se agitó vigorosamente bajo H₂ (usando un globo) durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de Celite seguido de lavado con MeOH. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se trituró en pentano para dar ((4-propilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo (2,7 g, 10,5 mmol) como un polvo blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.68 (m, 1 H), 2.87 (d, *J*=6.4 Hz, 2 H), 2.69-2.53 (m, 4 H), 1.38 (s, 9 H), 1.18 (m, 8 H), 0.84 (q, *J*=5.9 Hz, 3 H). MS *m/z* 257 (M+H)⁺.

Intermedio 11

35 2-((4-(piridin-3-il)piperidin-4-il)metil)isoindolin-1,3-diona



Etapa a: A una suspensión de hidruro de sodio (60% en aceite mineral, 1.487 g mg, 37.2 mmol) en DMF (25 ml) se añadió a 0 °C 2-(piridin-3-il) acetonitrilo (1.537 g, 13.01 mmol) en DMF (5 ml) gota a gota en 10 min. La mezcla resultante se agitó 30 min a 0°C. Se añadió tert-butil-bis (2-cloroetil)carbamato (3,0 g, 12,39 mmol) en DMF (5 ml) a 0 °C, la mezcla resultante se agitó durante 15 minutos a 0 °C y durante 16 horas a 75 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ acuoso y se extrajo con Et₂O. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 10 al 80%) para dar 4-ciano-4-(piridin-3-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (2,58 g, 8,98 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.69 (d, *J*=2.02 Hz, 1 H), 8.55 (dd, *J*=4.80, 1.52 Hz, 1 H), 7.68-7.81 (m, 1 H), 7.30 (ddd, *J*=8.08, 4.80, 0.76 Hz, 1 H), 4.25 (br. s., 2 H), 3.15 (br. s., 2 H), 2.06 (d, *J*=11.87 Hz, 2 H), 1.81-1.98 (m, 2 H), 1.42 (s, 9 H).

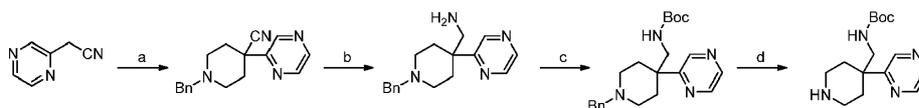
Etapa b: A una solución de 4-ciano-4-(piridin-3-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (1,0 g, 3,48 mmol) en MeOH (30 ml) se añadió a temperatura ambiente, COCl₂·6H₂O (828 mg, 2,38 mmol) y borohidruro de sodio (658 mg, 17,40 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de MeOH/DCM del 0 al 15%) para dar 4-(aminometil)-4-(piridin-3-il) iperidin-1-carboxilato de tert-butilo (683 mg, 2.344 mmol). MS *m/z* 292.2 (M+H)⁺.

Etapa c: Una suspensión de 4-(aminometil)-4-(piridin-3-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (683 mg, 2.344 mmol), anhídrido ftálico (434 mg, 2.93 mmol), tamices moleculares activados (3 angstroms, 500 mg) y DIPEA (1,23 ml, 7,03 mmol) en tolueno (12 ml) se agitó durante 16 horas a 105°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido de un lavado con EtOAc (10 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de MeOH/DCM del 0 al 10%) para dar 4-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil)-4-(piridin-3-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (640 mg, 1.518 mmol). MS *m/z* 422.3 (M+H)⁺.

Etapa d: Una solución de 4-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil)-4-(piridin-3-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (640 mg, 1.518 mmol) y HCl (4 M en dioxano, 1,9 ml, 7,59 mmol) en dioxano (20 ml) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar la sal de HCl del compuesto del título (543 mg, 1.518 mmol). MS *m/z* 322.2 (M+H)⁺.

Intermedio 12

((4-(pirazin-2-il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo



Etapa a: A una suspensión de hidruro de sodio (60% en aceite mineral, 1,90 g, 47,7 mmol) en DMF (30 ml) se añadió a 0 °C 2-(pirazin-2-il) acetonitrilo (1,90 g, 15,90 mmol) en DMF (5 ml) gota a gota en 10 min. La mezcla resultante se agitó 30 min a 0°C. Se añadió N-bencil-2-cloro-N-(2-cloroetil)etanamina (4.7 g, 17.5 mmol) en DMF (5 ml) a 0 °C, la mezcla resultante se agitó durante 15 minutos a 0 °C y durante 16 h a 90 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ acuoso y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, se concentraron y el residuo resultante se purificó por trituration con hexano para dar 1-bencil-4-(pirazin-2-il)piperidin-4-carbonitrilo (1,60 g, 5,76 mmol).

Etapa b: A una solución de 1-bencil-4-(pirazin-2-il)piperidin-4-carbonitrilo (1,50 g, 5,39 mmol) en SO₃ (7 N en MeOH, 50 ml) se agregó níquel Raney a temperatura temperatura ambiente (750 mg). La suspensión resultante se agitó vigorosamente bajo H₂ (60 psi) a temperatura ambiente hasta que desapareció el material de partida (16 h). La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido de un lavado con MeOH (50 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (1-bencil-4-(pirazin-2-il)piperidin-4-il) metanamina (1,20 g, 4,25 mmol) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS *m/z* 319 (M+H)⁺.

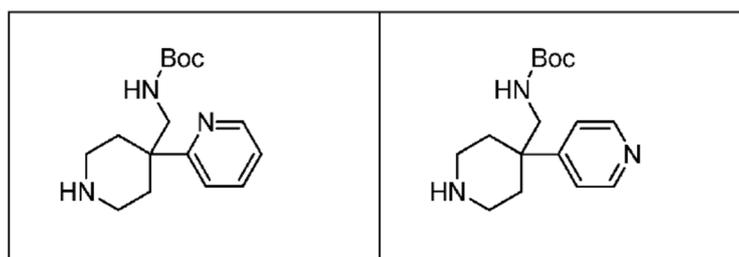
Etapa c: Una solución de (1-bencil-4-(pirazin-2-il) piperidin-4-il) metanamina (1,20 g, 4,25 mmol), Et₃N (1,17 ml, 8,51 mmol) y Boc₂O (1,95 ml, 8,51 mmol) en DCM (50 ml) se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con H₂O y se extrajo con DCM (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante

se purificó por cromatografía de sílica (0 a 100% de EtOAc/heptano) para dar ((1-bencil-4-(pirazin-2-il) piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (1,30. g, 3,40 mmol). MS m/z 383 (M+H)⁺.

5 Etapa d: Una suspensión de ((1-bencil-4-(pirazin-2-il) piperidin-4-il) metil)carbamato de tert-butilo (1,50 g, 3,93 mmol) y Pd(OH)₂ (20% sobre carbono, 600 mg, 50% de humedad) en MeOH (20 ml) se agitó vigorosamente bajo H₂ (50 psi) durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido de un lavado con MeOH (50 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y para dar ((4-(pirazin-2-il) piperidin-4-il) metil)carbamato de tert-butilo (1,10 g, 3,76 mmol) que se usó sin purificación adicional. MS m/z 283 (M+H)⁺.

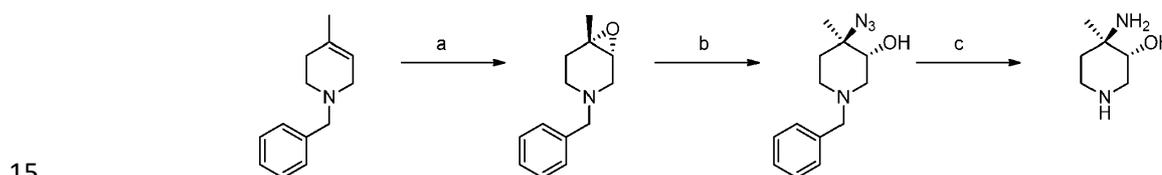
10 Los siguientes productos intermedios de la Tabla 1 se realizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando los correspondientes nitrilos heteroaromáticos disponibles comerciales.

Tabla 1



Intermedio 13

trans-4-amino-4-metilpiperidin-3-ol racémico.



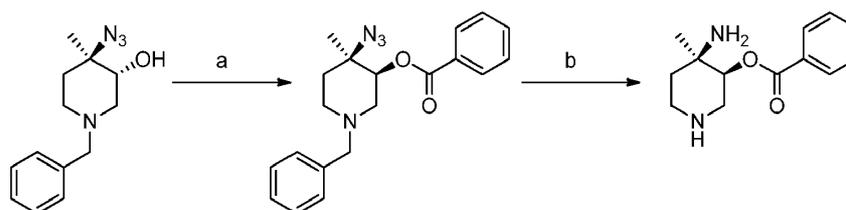
Etapa a: La 1-bencil-4-metil-1,2,3,6-tetrahidropiridina disponible comercialmente se convirtió en 3-bencil-6-metil-7-oxa-3-azabicyclo [4.1.0]heptano racémica mediante el procedimiento a , como se describe en Grishina et al., Russian Journal of Organic Chemistry, vol. 41, No.2, 2005.

20 Etapa b: A una solución a 0 °C de 3-bencil-6-metil-7-oxa-3-azabicyclo [4.1.0] heptano racémico (4.5 g, 22.153 mmol) en agua (45 ml) y ácido acético (22 ml) se añadió azida de sodio (7.2 g, 110.766 mmol). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se detuvo mediante la adición de bicarbonato de sodio acuoso saturado (60 ml). La mezcla se extrajo con DCM (3 x 200 ml) y EtOAc (2 x 150 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de sílica gel (25 a 30% de EtOAc/heptano) para dar *trans*-4-azido-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol racémico (3.3 g, 16.23 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.34-7.24 (m, 5 H), 3.53 (s, 2 H), 3.35 (s, 1 H), 2.70-2.57 (m, 3 H), 3.32-2.26 (m, 1 H), 1.89-1.81 (m, 1 H), 1.59-1.55 (m, 1 H), 1.37 (s, 3 H). MS m/z 247.4 (M+H)⁺.

30 Etapa c: A una solución de *trans*-4-azido-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol racémico (474 mg, 1.926 mmol) en MeOH se le añadió una cantidad catalítica de Pd/C. La solución se desgasificó y se rellenó con H₂ 2x. La reacción se agitó durante 1 h, el LCMS indicó que se consumió SM. La reacción se filtró a través de Celite/arena (MeOH). Esto dio lugar al aislamiento de 444 mg (aceite de color amarillo/semisólido). La ¹H RMN 1H indicó una reducción incompleta (se detectaron picos aromáticos), por lo que se repitió el procedimiento anterior. La reacción se filtró a través de Celite/arena y se concentró. La ¹H RMN confirmó la ausencia de picos aromáticos. Resultaron 247 mg de un aceite viscoso que se usó sin purificación adicional.

35 Intermedio 14

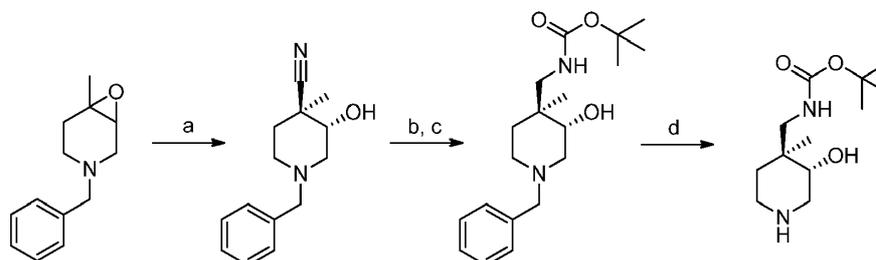
cis-4-azido-4-metilpiperidin-3-il benzoato racémico



5 Etapa a: A una solución de *trans*-4-azido-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol racémica (500 mg, 2.03 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió ácido benzoico (273 mg, 2.233 mmol), di-*tert*-butilazodicarboxilato (514 mg, 2.233 mmol) y trifenilfosfina (586 mg, 2.233 mmol). La reacción se agitó durante 16 h a TA. La reacción se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (100 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 20%) para dar *cis*-4-azido-1-bencil-4-metilpiperidin-3-il benzoato racémico (92 mg, 0.263 mmol) como un aceite de color amarillo que solidificó en un sólido cristalino blanquecino. ¹H RMN (DMSO-*d*₆) δ ppm 8.37 (d, *J*=9.0 Hz, 2 H), 8.19 (d, *J*=8.9 Hz, 2 H), 7.31-7.18 (m, 6 H), 4.44-4.32 (m, 2 H), 4.08 (d, *J*=13.3 Hz, 1 H), 3.60 (d, *J*=13.3 Hz, 1 H), 3.0 (dd, *J*=4.4, 6.4 Hz, 1 H), 2.79-2.73 (m, 1 H), 2.49-2.42 (m, 1 H), 1.92-1.85 (m, 2 H), 1.49 (s, 3 H). MS *m/z* 351.1 (M+H)⁺.

10 Etapa b: A una solución de *cis*-4-azido-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ilbenzoato racémico (90 mg, 0.257 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadió 10% de Pd/C (50 mg). La reacción se desgasificó y se volvió a llenar 3x con H₂ (globo). La reacción se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción cruda se filtró a través de Celite (MeOH) y la solución recolectada se concentró para dar de *cis*-4-amino-1-bencil-4-metilpiperidin-3-il 4-nitrobenzoato racémico (48 mg, 0.184 mmol). El material crudo se usó sin purificación adicional. MS *m/z* 235.2 (M+H)⁺.

Intermedio 15

trans-((3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de *tert*-butilo racémico

20 Etapa a: Se añadió una solución de hidruro de litio (0,116 g, 14,8 mmol) en THF (20 ml) a acetona cianohidrina a 0°C (1,4 ml, 14,8 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar un sólido blanco. A una solución de este sólido en THF (60 ml) se añadió a temperatura ambiente 3-bencil-6-metil-7-oxa-3-azabicyclo [4.1.0] heptano (2,0 g, 9,85 mmol) gota a gota. Después de completar la adición, la solución se agitó durante 14 h a reflujo. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadió agua (10 ml) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 20%) para obtener *trans*-1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-carbonitrilo racémico (0,70 g, 3,0 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.36-7.22 (m, 5 H), 5.25 (d, *J*=6.0 Hz, 1 H), 3.70-3.67 (m, 1 H), 3.49 (dd, *J*=13.2, 10.4 Hz, 2 H), 2.37 (m, 3 H), 1.88-1.74 (m, 2 H), 1.25 (s, 3 H). MS *m/z* 231.2 (M+H)⁺.

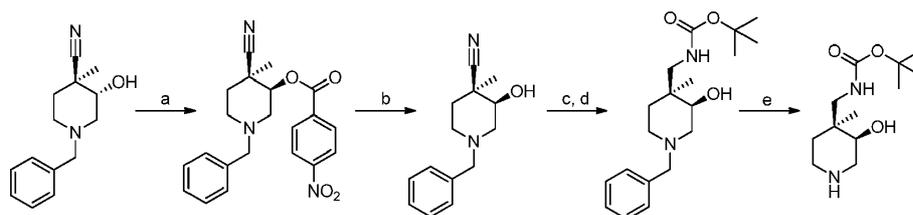
30 Etapa b: Una suspensión de *trans*-1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-carbonitrilo racémica (1,3 g, 5,6 mmol) y níquel Raney (50% en agua, 600 mg) en amoníaco (7 N en EtOH; 80 ml) se agitó vigorosamente bajo hidrógeno (globo) durante 6 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de Celite BAJO N₂ y se lavó con MeOH. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar *trans*-4-(aminometil)-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol (1,6 g, 4,79 mmol). Este compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS *m/z* 235.2 (M+H)⁺.

35 Etapa c: Una solución de *trans*-4-(aminometil)-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol (1,6 g, 4,79 mmol), Boc₂O (2,84 mL, 12,4 mmol) y NaHCO₃ (0,935 g, 11,1 mmol) en CHCl₃ (70 ml) se agitó durante 14 horas a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con agua con hielo y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (0 a 5% de MeOH/DCM) para dar *trans*-(1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo racémico (1,6 g, 4,79 mmol). MS *m/z* 335.3 (M+H)⁺.

Etapa d: Una suspensión de *trans* -((1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo racémico (1,1 g, 3.3 mmol) y Pd(OH)₂ (20% sobre carbón; 0,250 g) en MeOH (60 ml) se agitó vigorosamente bajo atmósfera de hidrógeno (globo) durante 6 horas a temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. Concentrado, luego se tritura a partir de hexano (10 ml) y dietil éter (2 ml) para dar *trans* -((3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo racémico (0,70 g, 2,87 mmol) como un polvo blanco. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ 3.42 (dd, *J*=9.9, 4.4 Hz, 1 H), 3.12 (d, *J*=13.9 Hz, 1 H), 2.94-2.84 (m, 2 H), 2.82-2.68 (m, 2 H), 2.62 (dd, *J*=12.5, 10.0 Hz, 1 H), 1.44 (s, 9 H), 1.41-1.30 (m, 2 H), 0.91 (s, 3 H). MS *m/z* 245.1 (M+H)⁺.

Intermedio 16

cis-((3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de *tert*-butilo racémico



Etapa a: Una solución de *trans*-1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-carbonitrilo racémico (2,0 g, 8,70 mmol), trifetilfosfina (3,41 g, 13,0 mmol) y diisopropilazodicarboxilato (2,63 g, 13,0 mmol) en THF (30 ml) se agitó durante 10 minutos a 0°C. Se añadió ácido 4-nitrobenzoico (2,18 g, 13,0 mmol) en porciones y la mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se trituró con MeOH para dar *cis*-1-bencil-4-ciano-4-metilpiperidin-3-il 4-nitrobenzoato racémico (1,5 g, 3,96 mmol). MS *m/z* 380 (M+H)⁺. This material was used sin purificación adicional.

Etapa b: Una solución de *cis*-1-bencil-4-ciano-4-metilpiperidin-3-il 4-nitrobenzoato racémico (1,5 g, 3,96 mmol) y carbonato de potasio (1,07 g, 7,92 mmol) en MeOH (20 ml) se agitó vigorosamente durante 10 minutos a 0°C y durante 1 hora a temperatura ambiente. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 15%) para dar *cis*-1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-carbonitrilo racémico (0,8 g, 3,5 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.26 (m, 5 H), 3.99 (d, *J*=12.4 Hz, 1 H), 3.67 (d, *J*=12.8, 1 H), 3.60-3.51 (m, 2 H), 3.11-3.07 (m, 2 H), 2.76-2.69 (m, 2 H), 2.24 (dd, *J*=12.8, 6.0 Hz, 1 H), 1.87-1.80 (m, 1 H), 1.54 (s, 3 H). MS *m/z* 231 (M+H)⁺.

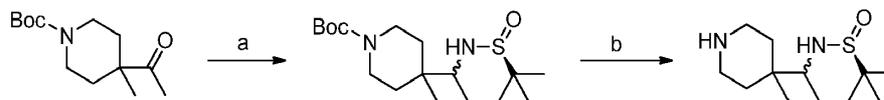
Etapa c: Una suspensión de *cis*-1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-carbonitrilo (800 mg, 3.5 mmol) y níquel Raney (50% en agua, 700 mg) en amoníaco (7 N en EtOH; 20 ml) se agitó vigorosamente bajo hidrógeno (globo) durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de Celite en N₂ y se lavó con MeOH. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar *cis*-4-(aminometil)-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol racémico (700 mg, 3,0 mmol). Este compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa d: Una solución de *cis*-4-(aminometil)-1-bencil-4-metilpiperidin-3-ol (700 mg, 3.0 mmol), Boc₂O (1.1 mL, 2.99 mmol), and Et₃N (860 μL, 5.98 mmol) en DCM (10 mL) se agitó durante 2 h a TA. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con agua con hielo y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de EtOAc/heptano del 0 al 50%) para dar *cis*-((1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de *tert*-butilo racémico (700 mg, 2.10 mmol). Este compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS *m/z* 335 (M+H)⁺.

Etapa e: Una suspensión de *tert*-butil *cis*-((1-bencil-3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il) metil)carbamato racémico (700 mg, 2.1 mmol) y Pd/C (10% sobre carbón; 300 mg) en MeOH (20 ml) se agitó vigorosamente bajo atmósfera de hidrógeno (globo) durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de sílica (gradiente de MeOH/DCM del 0 al 10%) para dar *cis* -((3-hidroxi-4-metilpiperidin-4-il) metil)carbamato de *tert*-butilo racémico (200 mg, 0,8 mmoles.) como un polvo blanco. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ 3.73-3.67 (m, 1 H), 3.59 (dd, *J*=11.1, 7.7 Hz, 1 H), 3.15-2.99 (m, 4 H), 1.90 (m, 1 H), 1.62 (m, 1 H), 1.47 (m, 1 H), 1.44 (s, 9 H), 0.96 (s, 3 H). MS *m/z* 245 (M+H)⁺.

Intermedio 17

(*S*)-2-metil-*N*-(1-(4-metilpiperidin-4-il)etil)propano-2-sulfinamida.

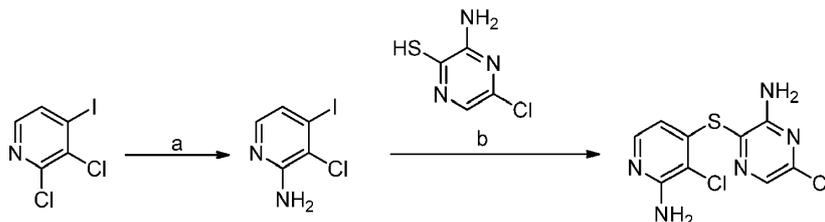


5 Etapa a: Una solución de 4-acetil-4-metilpiperidin-1-carboxilato de tert-butilo (2.20 g, 9.12 mmol), (*S*)-2-metilpropano-2-sulfonamida (2.21 g, 18.23 mmol), y tetraisopropoxititanio (10.8 mL, 36.5 mmol) en THF (40 mL) se agitó durante 60 h a 80 °C. Después de enfriar hasta -78 °C, se agregó MeOH (4 mL) seguido por borohidruro de litio (596 mg, 27.3 mmol). La mezcla se agitó durante 3 h a -78 °C y lentamente se calentó a temperatura ambiente dentro de 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con MeOH y salmuera. El sólido se eliminó por filtración a través de un tapón de Celite y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. La solución acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 90% de EtOAc/heptano) para dar 4-(1-((*S*)-1,1-dimetiletilsulfonamido)etil)-4-metilpiperidin-1-carboxilato de tert-butilo (1.0 g, 2.89 mmol). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 3.84 (d, *J*=12.30 Hz, 2 H), 3.11-3.27 (m, 2 H), 2.89-3.10 (m, 2 H), 1.28-1.54 (m, 11 H), 1.18-1.28 (m, 9 H), 1.11-1.18 (m, 3 H), 0.88-0.96 (m, 3 H).

10 Etapa b: Una solución de 4-(1-((*S*)-1,1-dimetiletilsulfonamido)etil)-4-metilpiperidin-1-carboxilato de tert-butilo (250 mg, 0.721 mmol) y TFA (214 μL, 2.77 mmol) en DCM (3 mL) se agitó durante 2.5 h a 40 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y la (*S*)-2-metil-*N*-(1-(4-metilpiperidin-4-il)etil)propano-2-sulfonamida resultante (sal de TFA) se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Intermedio 18

3-((2-amino-3-cloropiridin-4-il)tio)-6-cloropirazin-2-amina

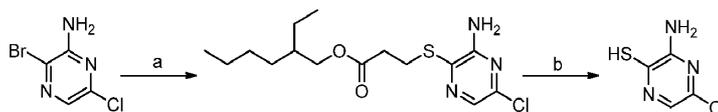


20 Etapa a: La 2,3-dicloro-4-yodopiridina comercialmente disponible se convirtió a 3-cloro-4-yodopiridin-2-amina mediante el procedimiento a, como se describe en Marie et al., *Molecules*, 2012, 17,10683-10707.

25 Etapa b: A una solución de 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (100 mg, 0.619 mmol), 3-cloro-4-yodopiridin-2-amina (315 mg, 1.238 mmol), XantPhos (35.8 mg, 0.062 mmol), y Pd₂(dba)₃ (28.3 mg, 0.03 mmol) en dioxano (3 mL) se añadió (a TA y bajo N₂) DIPEA (324 μL, 1.856 mmol). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 2.5 h a 100 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de Celite con EtOAc (10 mL). Los filtrados combinados se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 5% de MeOH/DCM) para dar 3-((2-amino-3-cloropiridin-4-il)tio)-6-cloropirazin-2-amina (180 mg, 0.627 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.88 (s, 1 H), 7.68 (d, *J*=5.56 Hz, 1 H), 6.06 (d, *J*=5.56 Hz, 1 H), 1.35-1.43 (m, 2 H). MS *m/z* 288.2 (M+H)⁺.

Intermedio 19

3-amino-5-cloropirazin-2-tiol



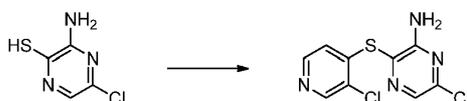
35 Etapa a: Una solución de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (4.95 g, 23.74 mmol) en dioxano (119 mL) se roció con nitrógeno durante 10 min. Luego, se agregaron 3-mercaptopropanoato de 2-etilexilo (3.79 mL, 24.92 mmol), XantPhos (1.37 g, 2.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (1.08 g, 1.19 mmol) y DIPEA (8.29 mL, 47.5 mmol). La mezcla resultante se agitó a 105 °C durante 24 h y la mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano) para producir 3-((3-amino-5-cloropirazin-2-

il)tio)propanoato de 2-etilexilo (6.24 g, 18.04 mmol) como un aceite de color amarillo. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.82 (s, 1 H), 4.93 (br. s., 2 H), 4.14-3.96 (m, 2 H), 3.47 (t, $J=6.9$ Hz, 2 H), 2.78 (t, $J=6.9$ Hz, 2 H), 1.67-1.51 (m, 1 H), 1.44-1.20 (m, 8 H), 0.90 (t, $J=7.4$ Hz, 6 H). MS m/z 346.0 (M+H) $^+$.

5 Etapa b: A una solución de 3-((3-amino-5-cloropirazin-2-il)tio)propanoato de 2-etilexilo (2.3 g, 6.65 mmol) en THF (33 mL) a -78 °C, se agregó tert-butoxido de potasio (1 M en THF, 19.95 mL, 19.95 mmol) y la mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 1 h. Se agregó MeOH (20 mL) y la mezcla resultante se concentró. El producto crudo se disolvió en MeOH, se filtró y se purificó por HPLC (elución en gradiente 5-20% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para producir 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (sal de TFA: 1.3 g, 4.72 mmol) como un sólido de color amarillo. MS m/z 162.0 (M+H) $^+$.

10 Intermedio 20

6-cloro-3-((3-cloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina

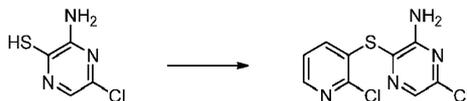


15 Una solución de 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.158 g, 0.978 mmol) en dioxano (4.9 mL) se roció con nitrógeno durante 10 min. Luego, se agregaron 3-cloro-4-yodopiridina (0.468 g, 1.955 mmol), XantPhos (0.057 g, 0.098 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.045 g, 0.049 mmol), y DIPEA (0.512 mL, 2.93 mmol). La mezcla resultante se agitó a 105 °C durante 10 h, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano, que contenía 2% de Et_3N) para producir 6-cloro-3-((3-cloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (75 mg, 0.274 mmol) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.46 (s, 1 H), 8.22 (d, $J=5.3$ Hz, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 6.68 (d, $J=5.3$ Hz, 1 H), 5.17 (br. s., 2 H). MS m/z 273.0 (M+H) $^+$.

20

Intermedio 21

6-cloro-3-((2-cloropiridin-3-il)tio)pirazin-2-amina

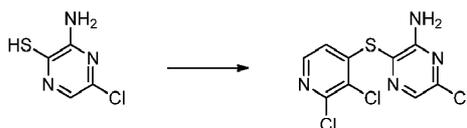


25 Una solución de 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.2 g, 1.238 mmol) en dioxano (6.2 mL) se roció con nitrógeno durante 10 min. Luego, se agregaron 2-cloro-3-yodopiridina (0.593 g, 2.475 mmol), XantPhos (0.072 g, 0.124 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.057 g, 0.062 mmol), y DIPEA (0.65 mL, 3.71 mmol). La mezcla resultante se agitó a 105 °C durante 10 h, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano, que contenía 2% de Et_3N) para producir 6-cloro-3-((2-cloropiridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (95 mg, 0.347 mmol) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.28-8.38 (m, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.51-7.59 (m, 1 H), 7.22 (dd, $J=7.9, 4.6$ Hz, 1 H), 5.25 (br. s., 2 H). MS m/z 273.0 (M+H) $^+$.

30

Intermedio 22

6-cloro-3-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina



35

40 Una solución de 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.50 g, 1.814 mmol) en dioxano (90 mL) se roció con nitrógeno durante 10 min. Luego, se agregaron 2,3-dicloro-4-yodopiridina (0.99 g, 3.63 mmol), XantPhos (0.105 g, 0.181 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.083 g, 0.091 mmol) y DIPEA (0.95 mL, 5.44 mmol). La mezcla resultante se agitó a 105 °C durante 10 h, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 10% de EtOAc/DCM). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.13 (d, $J=5.3$ Hz, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.30 (br. s., 2 H), 6.83 (d, $J=5.3$ Hz, 1 H). MS m/z 306.9 (M+H) $^+$.

40

Intermedio 23

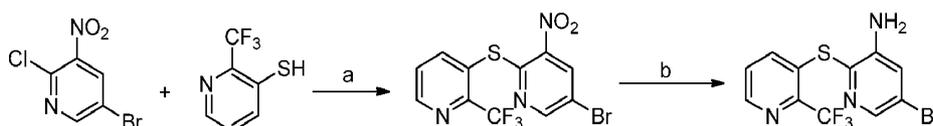
6-cloro-3-((3-fluoropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina



- 5 Una mezcla de 3-amino-5-cloropirazin-2-tiol (50 mg, 0.181 mmol), 3-fluoro-4-yodopiridina (121 mg, 0.544 mmol), XantPhos (10.5 mg, 0.018 mmol), Pd₂(dba)₃ (8.3 mg, 0.009 mmol), y DIPEA (95 μ L, 0.544 mmol) en dioxano (degassed, 1.8 mL) se agitó durante 10 h a 105 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se filtró a través de una capa de Celite seguido de lavado con EtOAc (25 ml). Los filtrados combinados se concentraron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano (que contenía 2% de Et₃N)) para dar 6-cloro-3-((3-fluoropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (25 mg, 0.097 mmol). MS *m/z* 257.0 (M+H)⁺.
- 10

Intermedio 24

5-bromo-2-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)piridin-3-amina



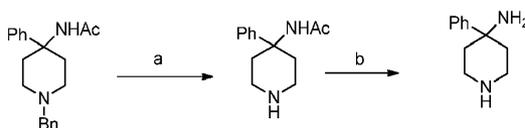
- 15 Etapa a: Una mezcla de 5-bromo-2-cloro-3-nitropiridina (600 mg, 2.53 mmol), 2-(trifluorometil)piridin-3-tiol (466 mg, 2.60 mmol), y carbonato de cesio (1.24 g, 3.79 mmol) en MeCN (12 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 45 min a 120 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se filtró a través de una capa de Celite. La solución de filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 20% de EtOAc/heptano) para dar 5-bromo-3-nitro-2-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)piridina (816 mg, 2.15 mmol). MS *m/z* 379.9 (M+H)⁺.
- 20

- Etapa b: Una mezcla de 5-bromo-3-nitro-2-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)piridina (816 mg, 2.15 mmol), hierro (839 mg, 15.0 mmol), y NH₄Cl (459 mg, 8.59 mmol) en EtOH (30 mL) y H₂O (8 mL) se agitó durante 3 h a 75 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con NaHCO₃ acuoso saturado y se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 25% de EtOAc/heptano) para dar 5-bromo-2-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)piridin-3-amina (630 mg, 1.80 mmol). MS *m/z* 350.1 (M+H)⁺.
- 25

Intermedio 25

4-fenilpiperidin-4-amina

30



- Etapa a: Una suspensión de *N*-(1-bencil-4-fenilpiperidin-4-il)acetamida (400 mg, 1.3 mmol) y Pd/C (138 mg) en MeOH se agitó vigorosamente durante 16 h bajo atmósfera de H₂. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en EtOAc y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró, y concentró bajo presión reducida para dar *N*-(4-fenilpiperidin-4-il)acetamida que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 35

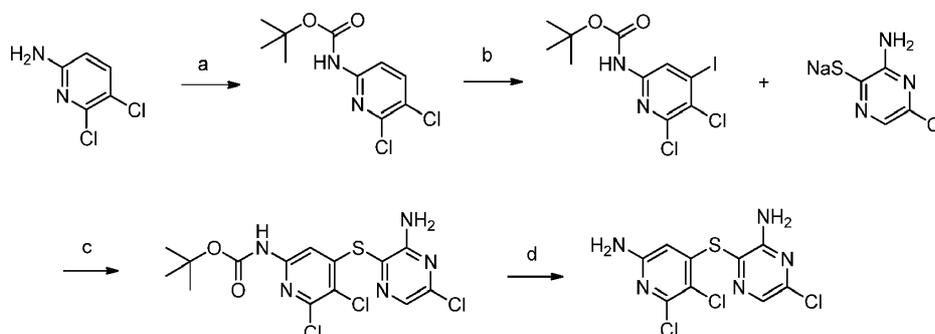
Etapa b: Una suspensión de *N*-(4-fenilpiperidin-4-il)acetamida (150 mg, 0.69 mmol) y LiOH (4 M en H₂O, 2.1 mL, 8.40 mmol) en MeOH:dioxano (1:1, 4 mL) se agitó durante 16 h a 100 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y la fase acuosa restante se extrajo con EtOAc (3 x 5 mL). Las fases orgánicas

combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron, y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar 4-fenilpiperidin-4-amina como un aceite incoloro que se usó sin purificación adicional.

Intermedio 26

3-((6-amino-2,3-dicloropiridin-4-il)tio)-6-cloropirazin-2-amina

5



10 Etapa a: A una solución de 5,6-dicloropiridin-2-amina (590 mg, 3.62 mmol) en THF (5 mL) se añadió LiHMDS (1 M en THF, 7.96 mL, 7.96 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó durante 10 min a 0 °C luego se agregó una solución de Boc_2O (869 mg, 3.98 mmol) en THF (5 mL) a la mezcla de reacción. La solución resultante se agitó durante 15 min a 0 °C luego se llevó a pH 4 mediante la adición de HCl 1 M. La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO_3 saturado acuoso, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, y concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano) para dar (5,6-dicloropiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (790 mg, 3.00 mmol). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.86 (d, $J=8.7$ Hz, 1 H), 7.70 (d, $J=8.7$ Hz, 1 H), 7.20 (br s, 1 H), 1.51 (s, 9 H). MS m/z 232.9 (M+H-*t*Bu) $^+$.

15 Etapa b: A una solución de diisopropilamina (1 mL, 7.07 mmol) en THF (5 mL) se añadió *n*-BuLi (2.5 M en hexanos, 2.83 mL, 7.07 mmol) a -78 °C y la solución resultante se agitó durante 1 h a esta temperatura. Se agregó (5,6-dicloropiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (930 mg, 3.53 mmol) en THF (5 mL) a -78 °C. Después de agitar a esta temperatura durante 2 h, se agregó yodo (987 mg, 3.89 mmol) en THF (5 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 30 min a -78 °C. Después de calentar hasta TA, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturado acuoso, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, y concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano) para dar (5,6-dicloro-4-yodopiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (813 mg, 2.09 mmol). ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.45 (s, 1 H), 7.12 (s, 1 H), 1.52 (s, 9 H). MS m/z 332.9 (M+H-*t*Bu) $^+$.

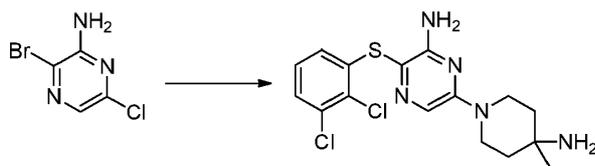
25 Etapa c: Una mezcla de (5,6-dicloro-4-yodopiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (610 mg, 1.57 mmol), 3-amino-5-cloropirazin-2-tiolato de sodio (302 mg, 1.65 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (72 mg, 0.08 mmol), XantPhos (91 mg, 0.16 mmol), y DIPEA (0.55 mL, 3.14 mmol) en dioxano (7.8 mL) se agitó durante 8 h a 110 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 40% de EtOAc/heptano) para dar (4-((3-amino-5-cloropirazin-2-il)tio)-5,6-dicloropiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (470 mg, 1.11 mmol). ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 10.24 (s, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 7.31 (br s, 2 H), 7.16 (s, 1 H), 1.38 (s, 9 H). MS m/z 321.9 (M+H-Boc) $^+$.

30 Etapa d: Una mezcla de (4-((3-amino-5-cloropirazin-2-il)tio)-5,6-dicloropiridin-2-il)carbamato de tert-butilo (470 mg, 1.11 mmol) y HCl (4 M en dioxano, 5.56 mL, 22.24 mmol) se agitó durante 1 h a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar diclorhidrato de 3-((6-amino-2,3-dicloropiridin-4-il)tio)-6-cloropirazin-2-amina (411 mg, 1.04 mmol) que se usó sin purificación adicional. MS m/z 324.0 (M+H) $^+$.

35

Ejemplo 1

6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina



5 Una suspensión de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (200 mg, 0.959 mmol), 2,3-diclorobencenotiol (189 mg, 1.055 mmol), y 4-metilmorfolina (158 μ L, 1.439 mmol) en NMP (2 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 1 h a 140 °C. Se agregó (4-metilpiperidin-4-il)carbamato de *tert*-butilo (310 mg, 1.45 mmol) seguido por la adición de 4-metilmorfolina (200 μ L, 1.82 mmol). Después de agitar en un reactor de microondas durante 1 h a 220 °C, (Nótese que bajo estas condiciones de reacción, el grupo protector Boc se eliminó) la reacción se purificó por HPLC (elución en gradiente 35-60% de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM) para dar el compuesto del título (66.6 mg, 0.173 mmol). ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7.60 (s, 1 H), 7.31 (dd, $J=8.08$, 1.52 Hz, 1 H), 7.12 (t, $J=8.08$ Hz, 1 H), 6.64 (dd, $J=7.96$, 1.39 Hz, 1 H), 3.82-4.00 (m, 2 H), 3.53 - 3.63 (m, 2 H), 1.57-1.76 (m, 4 H), 1.31 (s, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 384.0816, encontrado 384.0803. IC_{50} es 0.029 μM .

Los siguientes compuestos se realizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el tiol correspondiente. Aunque en la mayoría de los casos el grupo protector Boc se eliminó bajo las condiciones de reacción, se utilizó HCl o TFA cuando fue necesario.

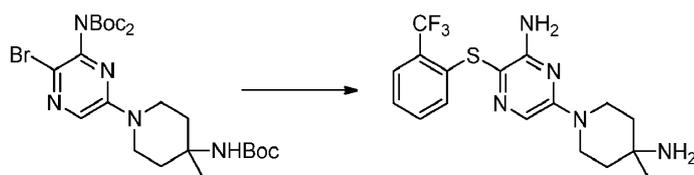
Tabla 2

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
2		como sal de TFA. ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7.72 (s, 1 H), 7.41-7.49 (m, 1 H), 7.19-7.30 (m, 2 H), 6.90-7.00 (m, 1 H), 4.23 (dt, $J=14.27$, 4.36 Hz, 2 H), 3.49 (ddd, $J=14.15$, 8.72, 5.18 Hz, 2 H), 1.80-1.99 (m, 4 H), 1.52 (s, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClN}_5\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 350.1206, encontrado 350.1193.	0.070
3		^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7.45 (s, 1 H), 6.74 (t, $J=7.96$ Hz, 1 H), 6.52 (dd, $J=7.96$, 1.39 Hz, 1 H), 5.91 (dd, $J=7.83$, 1.26 Hz, 1 H), 3.93 (dt, $J=14.02$, 4.86 Hz, 2 H), 3.34 (ddd, $J=13.83$, 8.78, 4.42 Hz, 2 H), 1.55-1.74 (m, 4 H), 1.31 (s, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 365.1315, encontrado 365.1306.	0.062

15

Ejemplo 4

6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)feniltio)pirazin-2-amina



20 Una solución de (3-bromo-6-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de *tert*-butilo (200 mg, 0.341 mmol), 2-(trifluorometil)bencenotiol (135 μ L, 1.023 mmol), y 4-metilmorfolina (75 μ L, 0.682 mmol) en NMP (1 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 1 h a 200 °C y 1 h a 240 °C. Nótese que bajo estas condiciones de reacción, el grupo protector Boc se eliminó. Después de enfriar hasta TA, la mezcla se purificó por HPLC (elución en gradiente 35-65% de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5

mM) para dar el compuesto del título (14.1 mg, 0.037 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.67 (d, *J*=7.33 Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 7.39 (t, *J*=7.33 Hz, 1 H), 7.28 (t, *J*=7.58 Hz, 1 H), 7.00 (d, *J*=8.08 Hz, 1 H), 3.80 (ddd, *J*=13.64, 7.20, 4.17 Hz, 2 H), 3.51-3.69 (m, 2 H), 1.62 (ddd, *J*=9.60, 7.45, 4.42 Hz, 4 H), 1.24 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₁N₅F₃S (M+H)⁺ 384.1470, encontrado 384.1468. IC₅₀ es 0.059 μM.

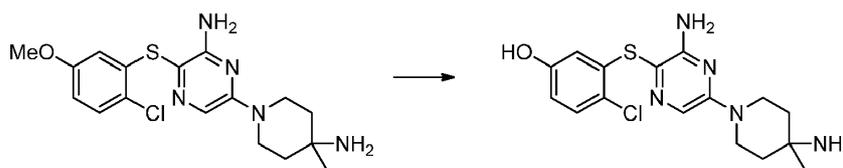
- 5 Los siguientes compuestos se realizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el tiol correspondiente. Aunque en la mayoría de los casos el grupo protector Boc se eliminó bajo las condiciones de reacción, se utilizó HCl o TFA cuando fue necesario.

Tabla 3

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
5		como sal de TFA. ¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.54 (s, 1 H), 7.28 (d, <i>J</i> =8.59 Hz, 1 H), 7.00-7.07 (m, 1 H), 6.53 (d, <i>J</i> =2.27 Hz, 1 H), 4.10 (dt, <i>J</i> =14.02, 4.36 Hz, 2 H), 3.31 (ddd, <i>J</i> =14.08, 9.03, 4.93 Hz, 2 H), 1.70-1.83 (m, 4 H), 1.41 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ N ₅ Cl ₂ S (M+H) ⁺ 384.0816, encontrado 384.0816.	1.082
6		como sal de TFA. ¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.51 (s, 1 H), 7.37 (d, <i>J</i> =2.27 Hz, 1 H), 7.07 (dd, <i>J</i> =8.59, 2.27 Hz, 1 H), 6.62 (d, <i>J</i> =8.59 Hz, 1 H), 4.08 (dt, <i>J</i> =14.27, 4.36 Hz, 2 H), 3.28 (ddd, <i>J</i> =14.08, 9.16, 4.80 Hz, 2 H), 1.66 - 1.82 (m, 4 H), 1.40 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ N ₅ Cl ₂ S (M+H) ⁺ 384.0816, encontrado 384.0844.	0.210
7		como sal de TFA. ¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.51 (s, 1 H), 7.18 (d, <i>J</i> =8.59 Hz, 1 H), 6.62 (dd, <i>J</i> =8.84, 3.03 Hz, 1 H), 6.16 (d, <i>J</i> =3.03 Hz, 1 H), 4.08 (dt, <i>J</i> =14.02, 4.23 Hz, 2 H), 3.56 (s, 3 H), 3.28 (ddd, <i>J</i> =14.08, 9.03, 4.93 Hz, 2 H), 1.68-1.83 (m, 4 H), 1.40 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₇ H ₂₃ N ₅ ClOS (M+H) ⁺ 380.1312, encontrado 380.1320.	13.666
8		como sal de TFA. ¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.88 (br. s., 3 H), 7.42 (dd, <i>J</i> =8.08, 1.26 Hz, 1 H), 7.32 (t, <i>J</i> =8.21 Hz, 1 H), 6.96 (dd, <i>J</i> =8.34, 1.26 Hz, 1 H), 6.87 (s, 1 H), 3.91 (d, <i>J</i> =13.89 Hz, 2 H), 3.20 (t, <i>J</i> =10.61 Hz, 2 H), 1.55-1.85 (m, 4 H), 1.28-1.38 (m, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ N ₅ Cl ₂ O (M+H) ⁺ 368.1045, encontrado 368.1043.	64.427

10 Ejemplo 9

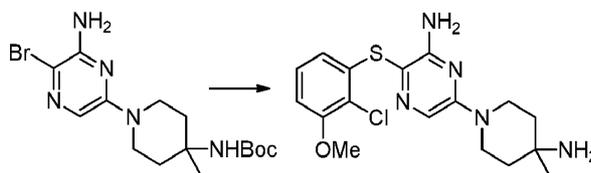
3-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-4-clorofenol



A una solución de 6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloro-5-metoxifeniltio)pirazin-2-amina) (43.5 mg, 0.088 mmol) en DCM (5 mL) se añadió a -78 °C y bajo N₂, BBr₃ (1 M en DCM, 264 μL, 0.264 mmol). Después de agitar 16 h a TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (10.7 mg, 0.029 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9.65 (br. s., 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.20 (d, *J*=8.53 Hz, 1 H), 6.51 (dd, *J*=8.53, 2.76 Hz, 1 H), 5.97-6.19 (m, 3 H), 3.74 (dt, *J*=13.24, 4.67 Hz, 2 H), 3.51 (ddd, *J*=13.18, 8.53, 4.39 Hz, 2 H), 1.57 (br. s., 1 H), 1.31-1.48 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₆H₂₁ClN₅OS (M+H)⁺ 366.1155, encontrado 366.1150. IC₅₀ es 0.307 μM.

10 Ejemplo 10

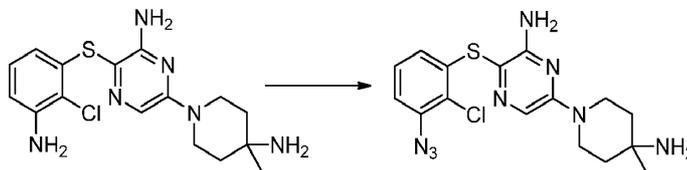
6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloro-3-metoxifeniltio)pirazin-2-amina)



Una suspensión de 1-(6-amino-5-bromopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (50 mg, 0.129 mmol), yoduro de cobre (I) (2.5 mg, 0.013 mmol), 2-cloro-3-metoxibencenotiol (45.2 mg, 0.259 mmol), y TMEDA (78 μL, 0.518 mmol) en dioxano (1 mL, desgasificado) se agitó en un reactor de microondas 14 h a 125 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se redisolvió en DCM (5 mL) y se trató con TFA (2 mL). Después de agitar 30 min a TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (42 mg, 0.085 mmol, sal de TFA). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.92 (br. s., 3 H), 7.66 (s, 1 H), 7.14 (t, *J*=8.08 Hz, 1 H), 6.85-6.96 (m, 1 H), 6.22 (dd, *J*=8.08, 1.01 Hz, 1 H), 6.14 (br. s., 1 H), 3.98-4.12 (m, 2 H), 3.85 (s, 3 H), 3.29 (dt, *J*=13.89, 6.69 Hz, 2 H), 1.71 (t, *J*=5.43 Hz, 4 H), 1.38 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₃ClN₅OS (M+H)⁺380.1312, encontrado 380.1298. IC₅₀ es 0.056 μM.

Ejemplo 11

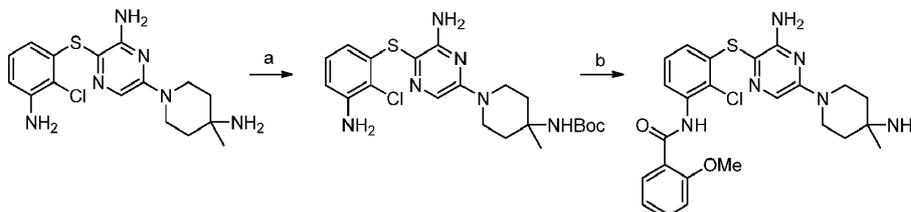
6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((3-azido-2-clorofeniltio)pirazin-2-amina)



A una solución de 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-amina) (sal de TFA, 90 mg, 0.188 mmol) en TFA (1 mL) se añadió en porciones a 0 °C nitrito de sodio (13.6 mg, 0.197 mmol). Después de agitar durante 40 min a 0 °C, se agregó en porciones azida de sodio (24.5 mg 0.376 mmol) en H₂O (preenfriado a 4 °C, 190 μL). Después de agitar durante 1 h a 0 °C y 30 min a TA, esta mezcla se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (12.1 mg, 0.027 mmol, sal de HCl). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.81 (s, 1 H), 7.32 (t, *J*=7.45 Hz, 1 H), 7.23 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H), 6.73 (d, *J*=6.82 Hz, 1 H), 4.27 (d, *J*=13.64 Hz, 2 H), 3.46-3.65 (m, 2 H), 1.95 (br. s., 4 H), 1.55 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₆H₂₀ClN₈S (M+H)⁺ 391.1220, encontrado 391.1219. IC₅₀ es 0.071 μM.

Ejemplo 12

N-(3-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-2-clorofenil)-2-metoxibenzamida



Etapa a: Una solución de 3-((3-amino-2-clorofenil)tio)pirazin-2-amina (75 mg, 0.206 mmol), DIPEA (54 μ L, 0.308 mmol), y Boc-anhídrido (49.3 mg, 0.226 mmol) en DCM (5 mL) se agitó durante 2 h a TA. Después de agitar durante otras 16 h a 45 $^{\circ}$ C, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 20 a 75% de EtOAc/heptano) para dar (1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofenil)tio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (76 mg, 0.163 mmol). MS m/z 465.1 (M+H)⁺.

Etapa b: Una solución de (1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofenil)tio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (25 mg, 0.054 mmol), DIPEA (28.2 μ L, 0.161 mmol), y cloruro de 2-metoxibenzoilo (8.8 μ L, 0.059 mmol) en DCM (1 mL) se agitó durante 6 h a TA. Luego, se agregó TFA (500 μ L). Después de agitar durante 30 min a TA los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (14.0 mg, 0.023 mmol, sal de TFA). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10.63 (s, 1 H), 8.25 (d, $J=7.83$ Hz, 1 H), 8.07 (dd, $J=7.83, 1.77$ Hz, 1 H), 7.93 (br. s., 2 H), 7.68 (s, 1 H), 7.60-7.66 (m, 1 H), 7.32 (d, $J=8.34$ Hz, 1 H), 7.23 (t, $J=8.08$ Hz, 1 H), 7.14-7.20 (m, 1 H), 6.43 (dd, $J=8.08, 1.52$ Hz, 1 H), 6.20 (br. s., 2 H), 4.10 (s, 3 H), 3.99-4.09 (m, 2 H), 3.30 (dt, $J=13.83, 6.85$ Hz, 2 H), 1.72 (t, $J=5.56$ Hz, 4 H), 1.38 (s, 3 H). HRMS calculado para C₂₄H₂₈ClN₆O₂S (M+H)⁺ 499.1683, encontrado 499.1665. IC₅₀ es 0.180 μ M.

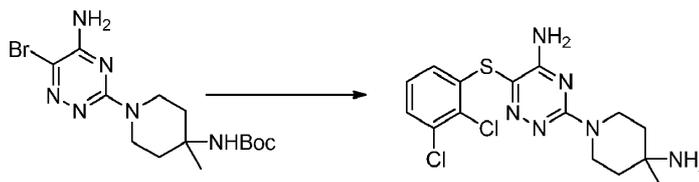
Los siguientes compuestos se fabricaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el correspondiente cloruro de acilo.

Tabla 4

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μ M)
13		como sal de TFA. ¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 10.27 (s, 1 H), 8.63 (s, 1 H), 8.00-8.14 (m, 4 H), 7.89 (br. s., 2 H), 7.58-7.76 (m, 3 H), 7.42 (dd, $J=7.96, 1.39$ Hz, 1 H), 7.26 (t, $J=7.96$ Hz, 1 H), 6.58 (dd, $J=8.08, 1.52$ Hz, 1 H), 6.22 (br. s., 2 H), 4.06 (d, $J=13.89$ Hz, 2 H), 3.23-3.35 (overlapping con H ₂ O, m, 2 H), 1.73 (t, $J=5.56$ Hz, 4 H), 1.38 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₂₇ H ₂₈ ClN ₆ O ₂ S (M+H) ⁺ 519.1734, encontrado 519.1719.	0.257

Ejemplo 14

3-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-6-((2,3-diclorofenil)tio)-1,2,4-triazin-5-amina

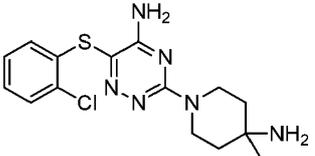


Una solución de (1-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (300 mg, 0.775 mmol), 2,3-diclorobencenotiol (277 mg, 1.549 mmol), y 4-metilmorfolina (128 μ L, 1.162 mmol) en NMP (2 mL) se agitó

5 en un reactor de microondas durante 90 min a 180 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (110.4 mg, 0.287 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.46 (dd, *J*=7.96, 1.14 Hz, 1 H), 7.26 (t, *J*=8.08 Hz, 1 H), 6.68 (dd, *J*=7.96, 1.14 Hz, 1 H), 3.98 (br. s., 2 H), 3.64 (br. s., 2 H), 1.61 (br. s., 2 H), 1.34-1.49 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₅H₁₉N₆Cl₂S (M+H)⁺ 385.0769, encontrado 385.0759. IC₅₀ es 0.143 μM.

Los siguientes compuestos se realizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el tiol correspondiente. Aunque en la mayoría de los casos el grupo protector Boc se eliminó bajo las condiciones de reacción, se utilizó HCl o TFA cuando fue necesario.

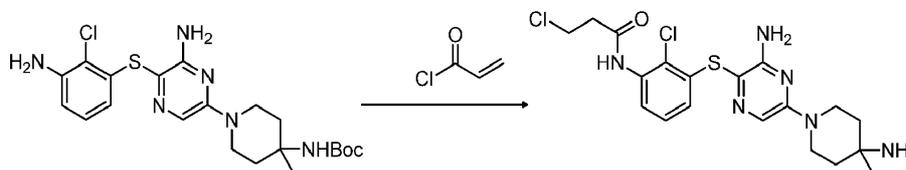
Tabla 5

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
15		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.49 (d, <i>J</i> =7.58 Hz, 1 H), 7.16-7.33 (m, 2 H), 6.72-6.82 (m, 1 H), 3.98 (d, <i>J</i> =12.63 Hz, 2 H), 3.64 (d, <i>J</i> =8.34 Hz, 2 H), 1.33-1.57 (m, 6 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₅ H ₂₀ N ₆ ClS (M+H) ⁺ 351.1159, encontrado 351.1153.	0.266

10

Ejemplo 16

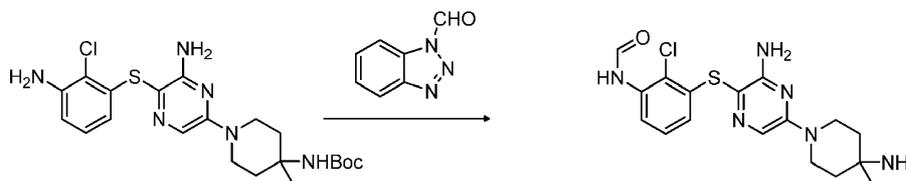
N-(3-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-2-clorofenil-3-cloropropanamida



15 Una solución de (1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofeniltio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (35 mg, 0.075 mmol) en DCM (1 mL) se añadió a - 78 °C y bajo N₂ DIPEA (14.5 μL, 0.083 mmol) y cloruro de acrililo (6.5 μL, 0.079 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida, el residuo se disolvió en dioxano (1 mL), se agregó HCl (4 M en dioxano, 200 μL) a 0 °C y la mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 °C y durante 2 h a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (elución en gradiente 10-30% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (3.0 mg, 0.005 mmol). sal de TFA, ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.51 (s, 1 H), 7.42 (d, *J*=7.58 Hz, 1 H), 7.03 (t, *J*=8.08 Hz, 1 H), 6.47 (dd, *J*=7.96, 1.39 Hz, 1 H), 4.08 (dt, *J*=14.15, 4.29 Hz, 2 H), 3.78 (t, *J*=6.44 Hz, 2 H), 3.29 (ddd, *J*=14.15, 8.97, 4.93 Hz, 2 H), 2.84 (t, *J*=6.32 Hz, 2 H), 1.67-1.84 (m, 4 H), 1.41 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₉H₂₅Cl₂N₆OS (M+H)⁺ 455.1187, encontrado 455.1188. IC₅₀ es 0.085 μM.

Ejemplo 17

N-(3-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-2-clorofenilformamida

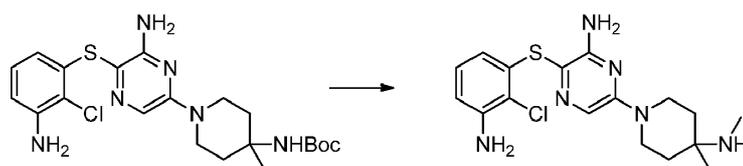


30 Una solución de (1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofeniltio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (63 mg, 0.135 mmol) y 1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-carbaldehído (39.9 mg, 0.271 mmol) en THF (1 mL) se agitó durante 3

h a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida, el residuo se disolvió en DCM, se lavó con NaOH 2 M, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El producto crudo se disolvió en DCM (2 mL) y se agregó TFA (200 µL). Después de agitar durante 1 h a TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (19 mg, 0.0484 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9.94 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 7.84 (dd, *J*=8.0, 1.0 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.17 (t, *J*=8.0 Hz, 1 H), 6.39 (dd, *J*=8.0, 1.0 Hz, 1 H), 6.10 (br. s, 2 H), 3.73 (s, 2 H), 3.51 (s, 2 H), 1.34-1.54 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₂ClN₆O₂ (M+H)⁺ 393.1264, encontrado 393.1264. IC₅₀ es 0.094 µM.

Ejemplo 18

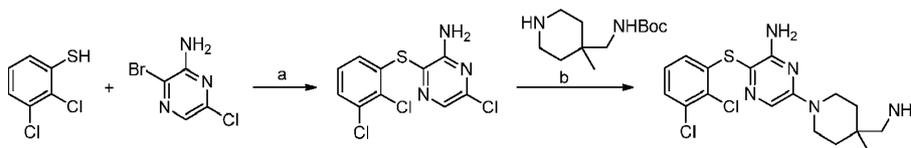
10 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-(4-metil-4-(metilamino)piperidin-1-il)pirazin-2-il)pirazin-2-amina



15 Una solución de (1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofeniltio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (122 mg, 0.262 mmol) en THF (1 mL) se añadió a TA y bajo N₂ LiAlH₄ (1M en THF, 394 µL, 0.394 mmol). La mezcla resultante se agitó a TA durante 2 min y en un reactor de microondas durante 30 min a 65 °C. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (82.3 mg, 0.738 mmol). sal de TFA, ¹H RMN (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ ppm 7.60 (s, 1 H), 6.88 (t, *J*=8.03 Hz, 1 H), 6.67 (dd, *J*=7.91, 1.38 Hz, 1 H), 6.05 (dd, *J*=7.78, 1.51 Hz, 1 H), 4.37 (d, *J*=14.05 Hz, 2 H), 3.24 (br. s., 2 H), 2.69 (s, 3 H), 1.90 (br. s., 2 H), 1.81 (d, *J*=3.76 Hz, 2 H), 1.52 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₄ClN₆S (M+H)⁺ 379.1472, encontrado 379.1540; IC₅₀ es 0.066 µM.

Ejemplo 19

6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina

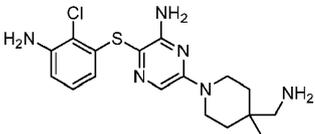
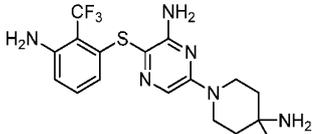
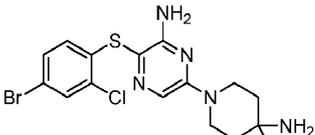
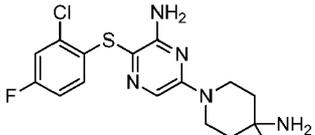


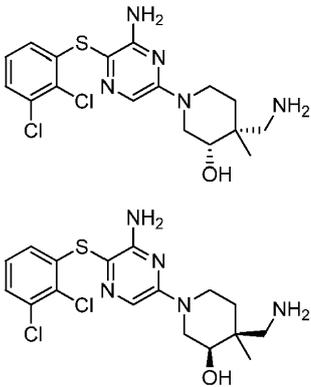
25 Etapa a: Una mezcla de 3-bromo-6-cloropirazin-2-amina (1.0 g, 4.80 mmol), 2,3-diclorobencenotiol (1.29 g, 7.20 mmol), yoduro de cobre (I) (91 mg, 0.48 mmol), fosfato de potasio (2.04 g, 9.59 mmol), y 1,10-fenantrolina (173 mg, 0.959 mmol) en dioxano (5 mL, desgasificado) se agitó durante 16 h a 90 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido por lavado con EtOAc (50 mL). Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 20% de EtOAc/heptano) para dar 6-cloro-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina (810 mg, 2.64 mmol). MS *m/z* 307.0 (M+H)⁺.

35 Etapa b: Una mezcla de 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-cloropirazin-2-amina (30 mg, 0.098 mmol), y ((4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (67 mg, 0.294 mmol) en DIPEA (100 µL) se agitó durante 16 h a 130 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con DCM (3 mL) y se agregó TFA (3 mL). Después de agitar a TA durante 5 min, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar el compuesto del título (sal de TFA; 36.0 mg, 0.069 mmol). Como sal de HCl, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.98 (s, 3 H), 7.65 (s, 1 H), 7.40 (dd, *J*=7.9, 1.4 Hz, 1 H), 7.22 (t, *J*=8.0 Hz, 1 H), 6.57 (dd, *J*=8.1, 1.4 Hz, 1 H), 6.17 (s, 2 H), 3.86 (m, 2 H), 3.37 (m, 2 H), 2.77 (m, 2 H), 1.52 (m, 2 H), 1.42 (m, 2 H), 1.08 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₂Cl₂N₅S (M+H)⁺ 398.0973, encontrado 398.0958.

40 Los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifican en la Tabla 6, se fabricaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina protegida con tior y Boc correspondiente.

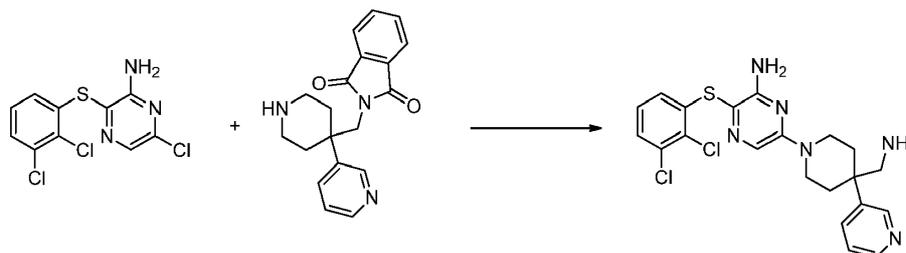
Tabla 6

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
20		¹ H RMN (400MHz, MeOD- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.52 (s, 1 H), 6.85 (t, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 6.62 (dd, <i>J</i> =1.3, 8.1 Hz, 1 H), 6.03 (dd, <i>J</i> =1.3, 7.8 Hz, 1 H), 4.00 - 3.83 (m, 2 H), 3.45-3.34 (m, 2 H), 2.54 (br. s., 2 H), 1.59-1.38 (m, 4 H), 1.05 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₇ H ₂₄ ClN ₆ S (M+H) ⁺ 379.1472, encontrado 379.1470.	0.022
21		¹ H RMN (400MHz, MeOD- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.44 (s, 1 H), 6.94-6.76 (m, 1 H), 6.48 (d, <i>J</i> =81 Hz, 1 H), 6.00 (d, <i>J</i> =8.1 Hz, 1 H), 3.84-3.68 (m, 2 H), 3.52-3.38 (m, 2 H), 1.69-1.47 (m, 4 H), 1.19 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₇ H ₂₂ F ₃ N ₆ S (M+H) ⁺ 399.1579, encontrado 399.1585.	0.046
22		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.73 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.43 (dd, <i>J</i> =8.5, 2.0 Hz, 1 H), 6.55 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 6.15 (br. s., 2 H), 3.64- 3.77 (m, 2 H), 3.49-3.63 (m, 2 H), 1.37- 1.54 (m, 4 H), 1.11 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ BrClN ₅ S (M+H) ⁺ 430.2553, encontrado 430.0283.	0.044
23		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.60 (s, 1 H), 7.50 (dd, <i>J</i> =8.5, 3.0 Hz, 1 H), 7.14 (td, <i>J</i> =8.5, 3.0 Hz, 1 H), 6.70 (dd, <i>J</i> =8.5, 6.0 Hz, 1 H), 6.12 (br. s., 2 H), 3.65-3.77 (m, 2 H), 3.46-3.58 (m, 2 H), 1.34-1.53 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ ClFN ₅ S (M+H) ⁺ 368.1105, encontrado 368.1112.	0.051
24	 racémico	como sal de HCl: ¹ H RMN (400 MHz, MeOD- <i>d</i> ₄) δ (ppm) 7.60 (s, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =1.3, 8.0 Hz, 1 H), 7.10 (t, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 6.61 (dd, <i>J</i> =1.3, 8.9 Hz, 1 H), 4.45-4.36 (m, 2 H), 3.66 (dd, <i>J</i> =5.0, 10.8 Hz, 1 H), 3.16-3.08 (m, 1 H), 2.92 (dd, <i>J</i> =10.8, 13.3 Hz, 1 H), 1.96-1.90 (m, 1 H), 1.86-1.77 (m, 1 H), 1.45 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ Cl ₂ N ₅ OS (M+H) ⁺ 400.0766, encontrado 400.0792.	0.049

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
25	 <p>racémico</p>	<p>como sal de TFA: ¹H RMN (400 MHz, MeOD-<i>d</i>₄) δ (ppm) 7.61 (s, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i>=1.4, 7.9 Hz, 1 H), 7.10 (t, <i>J</i>=8.0 Hz, 1 H), 6.61 (dd, <i>J</i>=1.3, 8.0 Hz, 1 H), 4.46-4.36 (m, 2 H), 3.66 (dd, <i>J</i>=5.0, 10.8 Hz, 1 H), 3.16-3.08 (m, 1 H), 2.92 (dd, <i>J</i>=10.9, 13.5 Hz, 1 H), 1.96-1.91 (m, 1 H), 1.86-1.77 (m, 1 H), 1.45 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₆H₂₀Cl₂N₅OS (M+H)⁺400.0766, encontrado 400.0777.</p>	0.077
26		<p>¹H RMN (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ ppm 7.66 (dd, <i>J</i>=9.0, 3.0 Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 7.44 (td, <i>J</i>=8.5, 3.0 Hz, 1 H), 7.00 (dd, <i>J</i>=9.0, 5.0 Hz, 1 H), 6.08 (br. s, 2 H), 3.65-3.76 (m, 2 H), 3.48-3.58 (m, 2 H), 1.33-1.51 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₀F₄N₅S (M+H)⁺ 402.1343, encontrado 402.1312.</p>	0.067
27a & 27b		<p>La purificación SFC quiral se realiza de la siguiente manera; columna: AD-H 21x250mm, tasa de flujo: 75 g por minuto, fase móvil: 40% MeOH y 10mM NH₄OH en CO₂, detección: 220 nm UV para obtener enantiómero individual R_t (P1)=3.5 min, R_t(P2)=4.8 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ ppm 7.33-7.42 (m, 2 H), 7.23 (t, <i>J</i>=8.08 Hz, 1 H), 6.59 (d, <i>J</i>=8.08 Hz, 1 H), 6.05 (s, 2 H), 3.72-3.82 (m, 2 H), 3.35-3.52 (m, 3 H), 2.30 (s, 2 H), 1.74-1.93 (m, 2 H), 1.08 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₇H₂₁Cl₂N₅OS (M+H)⁺414.0922, encontrado 414.0913.</p>	P1=0.076 P2=0.377

Ejemplo 28

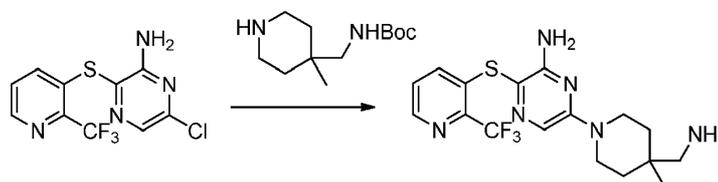
6-(4-(aminometil)-4-(piperidin-3-il)piperidin-1-il)-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina



Una solución de 6-cloro-3-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-amina (123 mg, 0.40 mmol) y 2-((4-(piridin-3-il)piperidin-4-il)metil)isoinдолin-1,3-diona (sal de HCl, 189 mg, 0.480 mmol) en DIPEA (3 mL) se agitó durante 16 h a 135 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante e hidrato de hidracina (35% en H₂O, 54 µL, 0.600 mmol) en THF:MeOH (1:1, 4 mL) se agitó durante 3 h a 55 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 35-60% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (101 mg, 0.219 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8.55 (s, 1 H) 8.38 (d, *J*=3.79 Hz, 1 H) 7.79-7.92 (m, 1 H) 7.46 (s, 1 H) 7.41 (dd, *J*=7.96, 4.93 Hz, 1 H) 7.19 (dd, *J*=8.08, 1.26 Hz, 1 H) 6.99 (t, *J*=8.08 Hz, 1 H) 6.51 (dd, *J*=8.08, 1.26 Hz, 1 H) 3.96 (dt, *J*=14.08, 4.45 Hz, 2 H) 3.16 (ddd, *J*=13.52, 10.23, 3.03 Hz, 2 H) 2.78 (s, 2 H) 2.27 (d, *J*=14.65 Hz, 2 H) 1.84 (ddd, *J*=14.02, 10.11, 3.92 Hz, 2 H). HRMS calculado para C₂₁H₂₃Cl₂N₆S (M+H)⁺ 461.1082, encontrado 461.1095; IC₅₀ es 0.054 µM.

Ejemplo 29

6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina

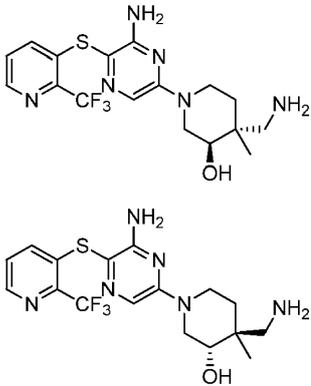
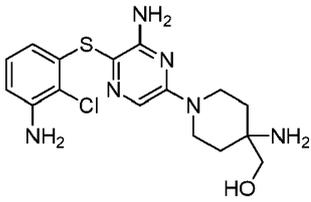


Una solución de 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (200 mg, 0.652 mmol) y ((4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (223 mg, 0.978 mmol) en DIPEA (4 mL) se agitó durante 2 h a 130 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en DCM (5 mL), se agregó TFA (500 µL) y la solución se agitó durante 20 min a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (192 mg, 0.482 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8.29 (dd, *J*=4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.48 (s, 1 H), 7.23-7.42 (m, 2 H), 3.86 (dt, *J*=13.64, 4.80 Hz, 2 H), 3.32 (ddd, *J*=13.58, 9.79, 3.66 Hz, 2 H), 2.46 (s, 2 H), 1.44 (ddd, *J*=13.64, 9.60, 4.29 Hz, 2 H), 1.35 (dt, *J*=13.52, 4.23 Hz, 2 H), 0.97 (s, 3 H). ¹⁹F RMN (376 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm -66.48 (s). HRMS calculado para C₁₇H₂₂N₆F₃S (M+H)⁺ 399.1579, encontrado 399.1581. IC₅₀ es 0.029 µM.

Los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifican en la Tabla 7, se fabricaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la correspondiente amina protegida con Boc.

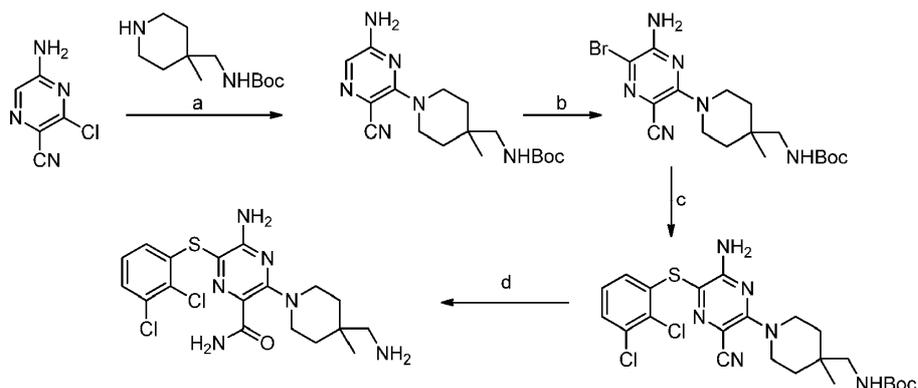
Tabla 7

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (µM)
30		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8.33-8.54 (m, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.55 (dd, <i>J</i> =8.0, 4.5 Hz, 1 H), 7.29 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 6.19 (s, 2 H), 3.72 (dt, <i>J</i> =13.0, 5.0 Hz, 2 H), 3.55 (ddd, <i>J</i> =13.0, 8.0, 5.0 Hz, 2 H), 1.36-1.51 (m, 4 H), 1.10 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ F ₃ N ₆ S (M+H) ⁺ 385.1422, encontrado 385.1417	0.066
31a & 31b		La purificación SFC quiral se realiza de la siguiente manera; columna: IC 21x250 mm, tasa de flujo: 75 g por minuto, fase móvil: 45% MeOH y 10 mM NH ₄ OH en CO ₂ , detección: 268 nm UV para obtener enantiómero individual R _t (P1)=5.0 min, R _t (P2)=6.4 min. ¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8.30 (dd, <i>J</i> =4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.21-7.40 (m, 2 H),	P1=0.781 P2=0.064

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
		4.01-4.22 (m, 2 H), 3.51 (dd, $J=10.36, 4.80$ Hz, 1 H), 2.99-3.14 (m, 1H), 2.88 (dd, $J=13.01, 10.48$ Hz, 1 H), 2.57-2.64 (m, 2 H), 1.33-1.45 (m, 2 H), 0.99 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₇ H ₂₂ F ₃ N ₆ OS (M+H) ⁺ 415.1528, encontrado 415.1531.	
32		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.54 (br. s., 1 H), 6.86 (t, $J=7.91$ Hz, 1 H), 6.62 (dd, $J=8.03, 1.25$ Hz, 1 H), 6.01 (dd, $J=7.91, 1.13$ Hz, 1 H), 3.88 (d, $J=12.30$ Hz, 2 H), 3.51-3.67 (m, 2 H), 3.45 (br. s., 2 H), 1.72 (br. s., 2 H), 1.56 (br. s., 2 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₂ Cl ₂ N ₆ OS (M+H) ⁺ 381.1264, encontrado 381.1258.	0.195

Ejemplo 33

5-amino-3-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-6-((2,3-diclorofenil)pirazin-2-carboxamida



5

Etapa a: Una solución de 5-amino-3-cloropirazin-2-carbonitrilo (176 mg, 1.139 mmol) y 4-(*N*-Boc-aminometil)4-pipercolina (286 mg, 1.253 mmol) en DIPEA (3 mL) se agitó durante 16 h a 130 °C. La mezcla de reacción se enfrió hasta TA y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 10 a 100% de EtOAc/heptano) para dar ((1-(6-amino-3-cianopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (251 mg, 0.725 mmol). MS m/z 347.3 (M+H)⁺.

10

Etapa b: A una solución de ((1-(6-amino-3-cianopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (230 mg, 0.664 mmol) en DCM (9.5 mL) se añadió, a 0 °C, NBS (130 mg, 0.730 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 5 min a 0 °C y durante 30 min a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 25 a 100% de EtOAc/heptano) para dar ((1-(6-amino-5-bromo-3-cianopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (224.6 mg, 0.528 mmol). MS m/z 427.2 (M+H)⁺.

15

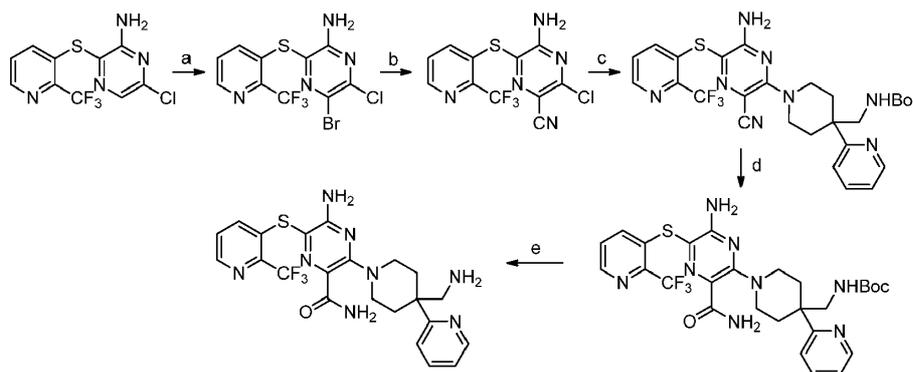
Etapa c: Una suspensión de 2,3-diclorobencenotiol (71 mg, 0.399 mmol), ((1-(6-amino-5-bromo-3-cianopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (113 mg, 0.266 mmol), fosfato de potasio (141 mg, 0.664 mmol),

yoduro de cobre (I) (~5 mg, 0.027 mmol), y 1,10-fenantrolina (9.6 mg, 0.053 mmol) en dioxano (2 mL, desgasificado) se agitó durante 16 h a 110 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla se diluyó con EtOAc filtrado a través de un tapón de Celite, se lavó con EtOAc. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 30 a 100% de EtOAc/heptano) para dar ((1-(6-amino-3-ciano-5-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (112.5 mg, 0.215 mmol). MS m/z 523.2 (M+H)⁺.

Etapa d: Una solución de ((1-(6-amino-3-ciano-5-((2,3-diclorofeniltio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (40 mg, 0.076 mmol) en MeOH (0.8 mL) y NaOH (1 M en H₂O, 0.8 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 40 min a 140 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla se diluyó con H₂O y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en DCM (2.5 mL) y se agregó TFA (150 µL). Después de agitar durante 45 min a TA los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 35-60% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar el compuesto del título (8 mg, 0.017 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.34 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H), 7.15 (t, *J*=7.96 Hz, 1 H), 6.78 (d, *J*=8.08 Hz, 1 H), 3.72 (dt, *J*=13.52, 4.61 Hz, 2 H), 2 protones de piperidina oscurecidos por solvente residual, 2.58 (br. s., 2 H), 1.60 (ddd, *J*=13.20, 9.79, 3.79 Hz, 2 H), 1.39-1.48 (m, 2 H), 1.06 (s, 3 H). HRMS calculado para C₁₈H₂₃Cl₂N₆OS (M+H)⁺ 441.1031, encontrado 441.1036. IC₅₀ es 0.019 µM.

Ejemplo 34

5-amino-3-(4-(aminometil)-4-(piridin-2-il)piperidin-1-il)-6-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-carboxamida



Etapa a: A una solución de 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (1.2 g, 2.119 mmol) en DCM (30 mL) se añadió en una porción a 0 °C NBS (745 mg, 4.19 mmol). La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 30 min a 0 °C y durante 1 h a TA. La solución clara se detuvo con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron subsecuentemente con agua, salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 50% de EtOAc/heptano) para dar 5-bromo-6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (938 mg, 2.51 mmol). MS m/z 387.2 (M+H)⁺.

Etapa b: Una mezcla de 5-bromo-6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (750 mg, 1.945 mmol) y cinuro de cobre (I) (348 mg, 3.89 mmol) en DMF (7 mL) se agitó durante 14 h a 120 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se filtró a través de una capa de Celite seguido por lavado con MeOH (50 mL). Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 100% de EtOAc/heptano) para producir 5-amino-3-cloro-6-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-carbonitrilo (301 mg, 0.907 mmol). MS m/z 332.3 (M+H)⁺.

Etapa c: Una mezcla de 5-amino-3-cloro-6-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-carbonitrilo (38 mg, 0.115 mmol) y ((4-(piridin-2-il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (66.8 mg, 0.229 mmol) en DIPEA (180 µL) se agitó durante 1 h a 135 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 100% de EtOAc/heptano) para producir ((1-(6-amino-3-ciano-5-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-il)-4-(piridin-2-il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (64 mg, 0.109 mmol). MS m/z 587.4 (M+H)⁺.

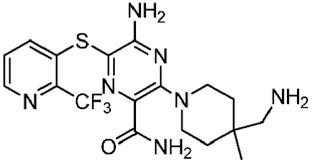
Etapa d: Una mezcla de ((1-(6-amino-3-ciano-5-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-il)-4-(piridin-2-il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (64 mg, 0.109 mmol) y NaOH (1 M en H₂O, 1.20 mL, 1.20 mmol) en MeOH (3 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 35 min a 110 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar ((1-(6-amino-3-carbamoi-5-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-il)-4-(piridin-2-

il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo crudo que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS m/z 605.5 (M+H)⁺.

5 Etapa e: Una solución de ((1-(6-amino-3-carbamoyl-5-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-il)-4-(piridin-2-il)piperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (66 mg, 0.109 mmol) en DCM (2 mL) se añadió TFA (420 μ L). La mezcla resultante se agitó a TA durante 1 h. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar 5-amino-3-(4-(aminometil)-4-(piridin-2-il)piperidin-1-il)-6-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-carboxamida (11 mg, 0.020 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8.53 (dd, $J=1.0, 4.8$ Hz, 1 H), 8.35 (dd, $J=1.0, 4.5$ Hz, 1 H), 7.75 (dt, $J=1.8, 7.8$ Hz, 1 H), 7.53-7.43 (m, 2 H), 7.38 (dd, $J=4.5, 8.1$ Hz, 1 H), 7.25-7.15 (m, 1 H), 3.75 (td, $J=4.1, 13.7$ Hz, 2 H), 3.07 (ddd, $J=2.5, 10.5, 13.3$ Hz, 2 H), 2.78 (br. s., 2 H), 2.41 (d, $J=13.9$ Hz, 2 H), 1.81 (ddd, $J=3.5, 10.4, 13.6$ Hz, 2 H). HRMS calculado para C₂₂H₂₄F₃N₈OS (M+H)⁺505.1697, encontrado 505.1709; IC₅₀ es 0.102 μ M.

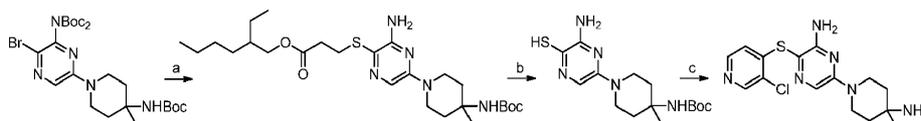
Los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifican en la Tabla 8, se fabricaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina correspondiente y el método de desprotección de amina.

15 Tabla 8

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μ M)
35		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8.34 (dd, $J=4.55, 1.01$ Hz, 1 H), 7.41-7.57 (m, 1 H), 7.37 (dd, $J=8.08, 4.55$ Hz, 1 H), 3.48-3.76 (m, 2 H), 3.23-3.29 (m, 2 H), 2.49 (s, 2 H), 1.39-1.60 (m, 2 H), 1.22-1.39 (m, 3 H), 0.95 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₈ H ₂₃ F ₃ N ₇ OS (M+H) ⁺ 442.1637, encontrado 442.1641.	0.109

Ejemplo 36

6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((3-cloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina



20 Etapa a: A una solución de (3-bromo-6-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de tert-butilo (1.0 g, 1.705 mmol), XantPhos (99 mg, 0.170 mmol), Pd₂(dba)₃ (78 mg, 0.085 mmol) en dioxano (3.5 mL) se añadió (a TA y bajo N₂) 2-etilexil-3-mercaptopropanoato (427 μ L, 1.875 mmol) seguido por la adición de DIPEA (893 μ L, 5.11 mmol). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 h a 110 °C, durante 2 h a 140 °C, y durante 2 h a 160 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se filtró a través de una capa de Celite seguido por EtOAc (5 mL) wash. Los filtrados combinados se concentraron y el residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 30% de EtOAc/heptano) para dar 3-((3-amino-5-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)propanoato de 2-etilexilo (279 mg, 0.533 mmol). MS m/z 524.5 (M+H)⁺.

30 Etapa b: A una solución de 3-((3-amino-5-(4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)propanoato de 2-etilexilo (210 mg, 0.401 mmol) en THF (2 mL) se añadió a -78 °C y bajo N₂ *tert*-butóxido de potasio (1 M en THF, 1.6 mL, 1.60 mmol). Después de agitar vigorosamente a -78 °C durante 15 min, la reacción se detuvo con K₂CO₃ acuoso (2 M, 500 μ L) y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar (1-(6-amino-5-mercaptopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (44 mg, 0.130 mmol), MS m/z 340.3 (M+H)⁺.

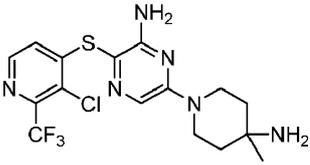
35 Etapa c: A una solución de (1-(6-amino-5-mercaptopirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)carbamato de tert-butilo (44 mg, 0.130 mmol), 4-bromo-3-cloropiridina (31.2 mg, 0.162 mmol), XantPhos (7.5 mg, 0.013 mmol), y Pd₂(dba)₃ (5.9 mg, 0.0065 mmol) en dioxano (2 mL) se añadió (a TA y bajo N₂) DIPEA (68 μ L, 0.389 mmol). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1 h a 110 °C y durante 1 h a 125 °C. Después de enfriar hasta TA, la reacción se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de Celite seguido por lavado con EtOAc (5 mL).

Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en DCM (3 mL) y se trató con TFA (500 μ L). La mezcla resultante se agitó durante 10 min a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM.) para dar 6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((3-cloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (8.5 mg, 0.024 mmol). ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ 8.30 (s, 1 H), 8.06 (d, $J=5.56$ Hz, 1 H), 7.52 (s, 1 H), 6.58 (d, $J=5.31$ Hz, 1 H), 3.76 (ddd, $J=13.64, 7.07, 4.29$ Hz, 2 H), 3.44-3.59 (m, 2 H), 1.45-1.64 (m, 4 H), 1.09-1.23 (m, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ClN}_6\text{S}$ (M+H) $^+$ 351.1159, encontrado 351.1159. IC_{50} es 0.076 μM .

Los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifican en la Tabla 9, se fabricaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el correspondiente bromuro de piridilo.

10

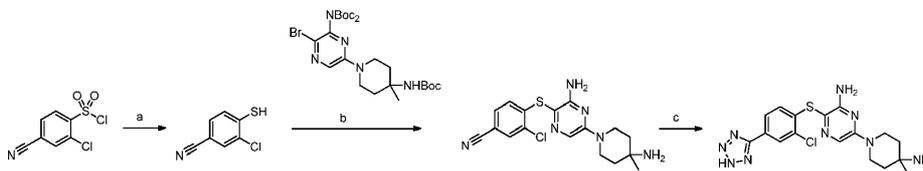
Tabla 9

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
37		^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8.16 (d, $J=5.30$ Hz, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 6.77 (d, $J=5.05$ Hz, 1 H), 3.71-3.88 (m, 2 H), 3.44-3.62 (m, 2 H), 1.45-1.65 (m, 4 H), 1.14-1.26 (m, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{S}$ (M+H) $^+$ 419.1033, encontrado 419.1011.	0.082

Ejemplo 38

6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)feniltio)pirazin-2-amina

15



20

Etapa a: Una solución de cloruro de 2-cloro-4-cianobencenosulfonilo (2.0 g, 8.47 mmol) y trifetilfosfina (6.67 g, 25.4 mmol) en tolueno (54 mL) se agitó durante 16 h a TA. La mezcla resultante se diluyó con DCM, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 1 a 100% de DCM/heptano) para producir 3-cloro-4-mercaptobenzonitrilo (1.29 g, 7.60 mmol). MS m/z 168.6 (M-H) $^-$.

25

Etapa b: Una solución de 3-cloro-4-mercaptobenzonitrilo (362 mg, 2.131 mmol), (3-bromo-6-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)(tert-butoxycarbonyl)carbamato de tert-butilo (250 mg, 0.426 mmol), y *N*-metilmorfolina (515 μL , 4.69 mmol) en NMP (2.7 mL) se agitó en un reactor de microondas durante 40 min a 230 $^\circ\text{C}$. Después de enfriar hasta TA, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH, se filtró y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM) para dar 4-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-3-clorobenzonitrilo (27.8 mg, 0.074 mmol). MS m/z 375.1 (M+H) $^+$.

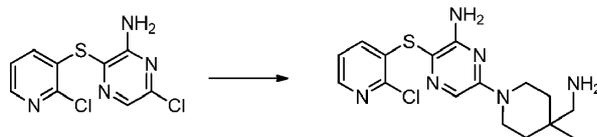
30

Etapa c: Una solución de 4-((3-amino-5-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-il)tio)-3-clorobenzonitrilo (27.8 mg, 0.074 mmol), azida de sodio (57.8 mg, 0.89 mmol), y cloruro de amonio (47.6 mg, 0.89 mmol) en DMF (2 mL) se agitó durante 90 min a 120 $^\circ\text{C}$. La mezcla resultante se diluyó con MeOH, se filtró y purificó directamente por HPLC (elución en gradiente 10-30% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar 6-(4-amino-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)feniltio)pirazin-2-amina (sal de TFA, 19.9 mg, 0.036 mmol). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.09 (d, $J=1.77$ Hz, 1 H) 7.94 (br. s., 3 H) 7.86 (dd, $J=8.34, 1.77$ Hz, 1 H) 7.70 (s, 1 H) 6.83 (d, $J=8.34$ Hz, 1 H) 6.28 (br. s., 2 H) 3.98-4.13 (m, 2 H) 3.32 (dt, $J=13.89, 6.69$ Hz, 2 H) 1.73 (t, $J=5.31$ Hz, 4 H) 1.38 (s, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{ClN}_9\text{S}$ (M+H) $^+$ 418.1324, encontrado 418.1306. IC_{50} es 0.023 μM .

35

Ejemplo 39

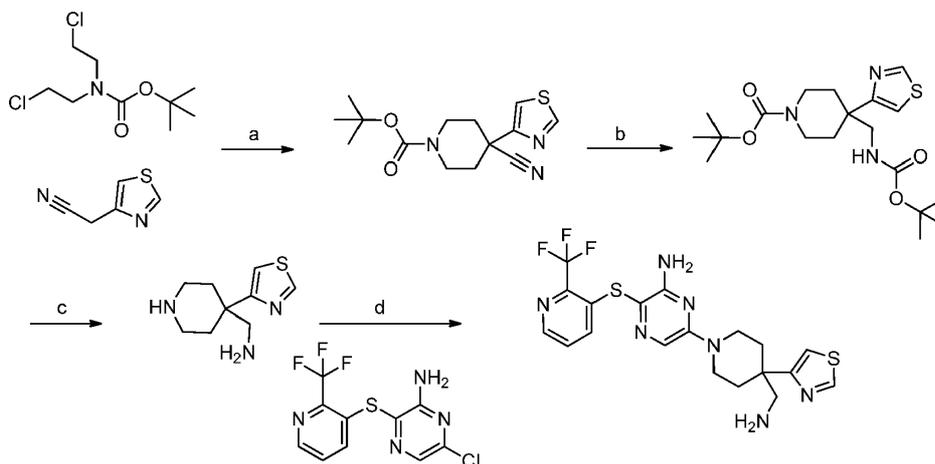
6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloropiridin-3-il)tio)pirazin-2-amina



Etapa a: A una suspensión de 6-cloro-3-((2-cloropiridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (25 mg, 0.092 mmol) en DIPEA (0.9 mL), se agregó ((4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (105 mg, 0.405 mmol). La mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 10 h luego se concentró. El producto crudo se disolvió en DCM (2 mL) y se agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 229 μ L, 0.915 mmol). La mezcla resultante se agitó a TA durante 1 h y se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC (elución en gradiente: 15 a 40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM) para producir 6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-cloropiridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (13 mg, 0.033 mmol) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8.15 (dd, $J=4.6, 1.6$ Hz, 1 H), 7.58-7.66 (m, 1 H), 7.30 (dd, $J=7.9, 4.6$ Hz, 1 H), 7.00 (dd, $J=7.9, 1.6$ Hz, 1 H), 6.20 (br. s, 2 H), 3.75-3.93 (m, 2 H), 3.20-3.51 (m, 2 H), 2.41 (s, 2 H), 1.21-1.53 (m, 4 H), 0.93 (s, 3 H). HRMS calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 365.1315, encontrado 365.1307. IC_{50} es 0.026 μM .

Ejemplo 40

6-(4-(aminometil)-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina



Etapa a: A una suspensión de hidruro sodio (0.93 g, 23.2 mmol, 60% en aceite mineral) en dimetil formamida (60 mL) a 0 °C se añadió 2-(tiazol-4-il)acetonitrilo (1.6 g, 12.9 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. Luego, se agregó bis(2-cloroetil)carbomato de tert-butilo (3.74 g, 15.5 mmol) y la mezcla se agitó a 55 °C durante 16 h. La mezcla se añadió a agua y se extrajo con éter (2x 200 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con agua y salmuera, se secaron y concentraron para dar 4-ciano-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo crudo (0.45 g, 1.54 mmol) que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

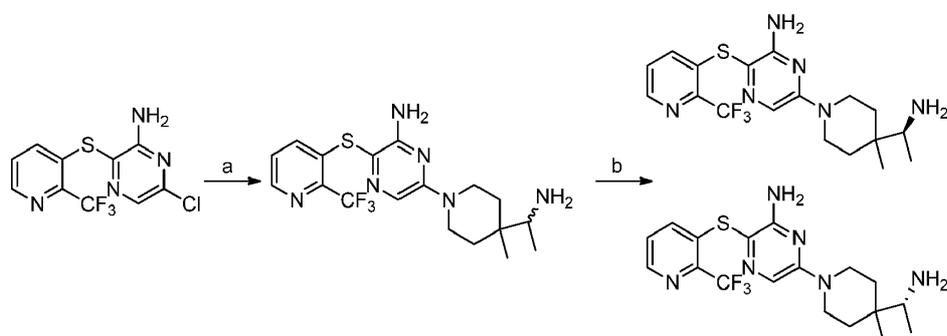
Etapa b: A una solución de 4-ciano-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (1.5 g, 5.12 mmol) en metanol (100 mL) a TA se añadió heptahidrato de cloruro de níquel (1.18 g, 4.95 mmol) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Luego, se agregó dicarbonato di-tert-butilo (3.34 g, 15.3 mmol) seguido por borohidruro de sodio (1.93 g, 51 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 16 h, se filtró a través de Celite, y se lavó con más metanol. El filtrado combinado se concentró y se sometió a partición entre acetato de etilo y agua. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó y concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de sílica para dar 4-(((tert-butoxicarbonil)amino)metil)-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (1.0 g, 2.52 mmol). MS m/z 396 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Etapa c: A una solución de 4-(((tert-butoxicarbonil)amino)metil)-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-carboxilato de tert-butilo (0.60 g, 1.51 mmol) en diclorometano (10 mL) a 0 °C se añadió ácido trifluoroacético (5 mL) y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla se concentró hasta sequedad, se redisolvió en metanol, y se agregó amberlist A-21 (0.6 g) a la solución. La solución se agitó a TA durante 4 h y se filtró a través de Celite. El solvente se evaporó para dar 4-(tiazol-4-il)piperidin-4-il)metanamina (0.45 g, crudo) que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa. MS m/z 198 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Etapa d: A una mezcla de 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (100 mg, 0.33 mmol) en 2-metil-1-pirrolidina (2 mL) y diisopropiletilamina (2 mL) en un tubo de presión se añadió (4-(tiazol-4-il)piperidin-4-il)metanamina (250 mg, 1.27 mmol). El tubo se selló y la mezcla se calentó a 130 °C durante 16 h. El tubo se enfrió y el contenido se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se lavó con agua y salmuera, se secó (sulfato de sodio) y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título que se concentró hasta sequedad, se disolvió en metanol (5 mL) y adicionado con 0.5 mL de ácido clorhídrico (6 M) a 0 °C. El material se concentró para dar clorhidrato de 6-(4-(aminometil)-4-(tiazol-4-il)piperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (sal de HCl: 39 mg, 0.077 mmol) como un sólido de color amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9.21 (d, *J*=1.5 Hz, 1 H), 8.47 (d, *J*=4.0 Hz, 1 H), 7.96 (br. s., 2 H), 7.76 (d, *J*=1.5 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 7.55 (dd, *J*=8.2, 4.4 Hz, 1 H), 7.30 (d, *J*=8.0 Hz, 1 H), 4.04 (d, *J*=13.8 Hz, 2 H), 3.01-3.24 (m, 4 H), 2.30 (d, *J*=13.8 Hz, 2 H), 1.88 (t, *J*=9.9 Hz, 2 H); HRMS calculado para C₁₉H₂₁F₃N₇S₂(M+H)⁺ 468.1252, encontrado 468.1267. IC₅₀ es 0.079 μM.

Ejemplo 41

(*S*) y (*R*)-6-(4-(1-aminoetil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina

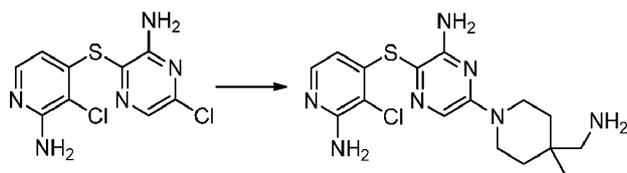


Etapa a: Una mezcla de 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (221 mg, 0.721 mmol) y (*S*)-2-metil-N-(1-(4-metilpiperidin-4-il)etil)propano-2-sulfamida (sal de TFA, 0.721 mmol) en DIPEA (3 mL) se agitó durante 16 h a 110 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante en DCM (2 mL) y HCl (4 M en dioxano, 2 mL) se agitó durante 1 h a 40 °C. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente: 15 a 40% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar 6-(4-(1-aminoetil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina (260 mg, 0.630 mmol, sal de TFA). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8.28 (d, *J*=4.04 Hz, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 7.18-7.40 (m, 2 H), 4.04 (td, *J*=8.59, 4.04 Hz, 2 H), 3.02-3.16 (m, 2 H), 2.57 (d, *J*=6.57 Hz, 1 H), 1.28-1.53 (m, 4 H), 0.95 (d, *J*=6.57 Hz, 3 H), 0.90 (s, 3 H). ¹⁹F RMN (376 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm -66.43 (s, 1 F). HRMS calculado para C₁₈H₂₄F₃N₆S (M+H)⁺ 413.1735, encontrado 413.1736.

Etapa b: La purificación SFC quiral de 6-(4-(1-aminoetil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-il)tio)pirazin-2-amina se realizó como sigue; columna: AD-H 21x250 mm, tasa de flujo: 80 g por minuto, fase móvil: 35% IPA y 10 mM NH₄OH en CO₂, detección: 214 nm UV para obtener enantiómeros individuales: R_t (P1)= 2.2 min, IC₅₀ es 0.097 μM; y R_t (P2)= 2.75 min.; IC₅₀ es 0.061 μM.

Ejemplo 42

3-((2-amino-3-cloropiridin-4-il)tio)-6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-amina

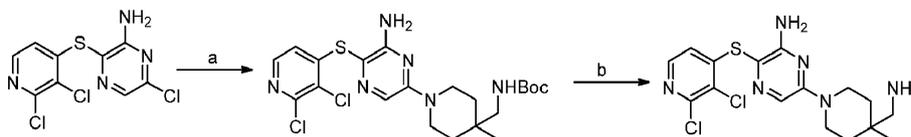


Una mezcla de 3-((2-amino-3-cloropiridin-4-il)tio)-6-cloropirazin-2-amina (60 mg, 0.208 mmol) y ((4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (95 mg, 0.416 mmol) en DIPEA (2 mL) se agitó durante 16 h a 130 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante en DCM (5 mL) y TFA (2 mL) se agitó 15 min a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para dar 3-((2-amino-3-cloropiridin-4-il)tio)-6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)pirazin-2-amina (14 mg, 0.037 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.58 (d, *J*=5.52 Hz, 1H) 7.55 (s, 1H), 5.91 (d, *J*=5.52 Hz, 1H), 3.95 (dt, *J*=13.68, 4.71 Hz, 2 H),

3.41 (ddd, $J=13.49, 9.85, 3.51$ Hz, 2 H), 2.56 (s, 2 H), 1.53 (ddd, $J=13.68, 9.66, 4.27$ Hz, 2 H), 1.44 (dt, $J=13.49, 4.30$ Hz, 2 H), 1.01-1.11 (m, 3 H). HRMS calculado para $C_{16}H_{23}ClN_7S$ (M+H)⁺ 380.1424, encontrado 380.1428. IC₅₀ es 0.023 μ M.

Ejemplo 43

5 6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina

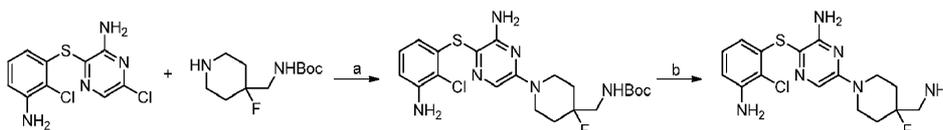


10 Etapa a: A una suspensión de 6-cloro-3-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (74 mg, 0.163 mmol) en DIPEA (0.8 mL), se añadió ((4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato (74 mg, 0.325 mmol). La mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 10 h y luego se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 50% de EtOAc/heptano; EtOAc que contenía 10% de MeOH; heptano que contenía 2% de Et₃N) para producir ((1-(6-amino-5-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (70 mg, 0.140 mmol) como un sólido blancuzco. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.95-8.08 (m, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 6.51-6.64 (m, 1 H), 4.84 (br. s., 2 H), 4.67 (t, $J=6.1$ Hz, 1 H), 3.80-3.98 (m, 2 H), 3.35-3.54 (m, 2H), 3.11 (d, $J=6.5$ Hz, 2H), 1.19-1.69 (m, 13 H), 1.03 (s, 3 H). MS m/z 499.1 (M+H)⁺.

15 Etapa b: ((1-(6-amino-5-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-il)-4-metilpiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (70 mg, 0.140 mmol) se disolvió en DCM (1 mL) y se agregó TFA (108 μ L, 1.40 mmol). La mezcla resultante se agitó a TA durante 1 h y se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC (elución en gradiente: 15 a 40% de acetonitrilo en agua, modificador de NH₄OH 5 mM) para producir 6-(4-(aminometil)-4-metilpiperidin-1-il)-3-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (14 mg, 0.035 mmol) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.98-8.05 (m, 1 H), 7.59-7.64 (m, 1 H), 6.58-6.67 (m, 1 H), 4.00 (dt, $J=13.7, 4.8$ Hz, 2 H), 3.45 (ddd, $J=13.6, 9.8, 3.8$ Hz, 2 H), 2.60 (s, 2 H), 1.40-1.65 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para $C_{16}H_{21}Cl_2N_6S$ (M+H)⁺ 399.0939, encontrado 399.0944. IC₅₀ es 0.014 μ M.

Ejemplo 44

25 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-(4-(aminometil)-4-fluoropiperidin-1-il)pirazin-2-amina

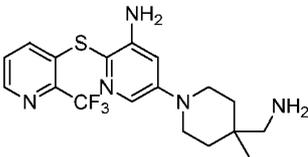
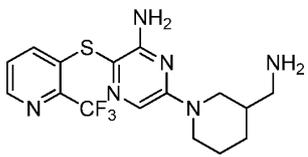
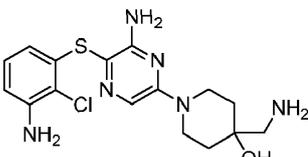


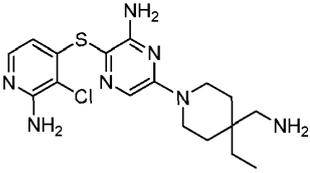
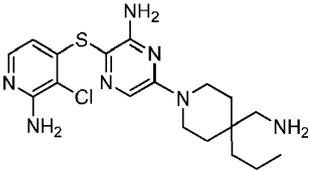
30 Etapa a: Una mezcla de 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-cloropirazin-2-amina (200 mg, 0.696 mmol) y ((4-fluoropiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (243 mg, 1.045 mmol), y DIPEA (0.6 mL, 3.48 mmol) en NMP (2 mL) se agitó durante 16 h a 150 °C. Después de enfriar hasta TA, La mezcla de reacción se vertió en un embudo de separación que contenía salmuera y se extrajo con EtOAc (3 x 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtró y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 10% de MeOH/DCM) para dar ((1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofeniltio)pirazin-2-il)-4-fluoropiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (285 mg, 0.590 mmol). MS m/z 483.1 (M+H)⁺.

35 Etapa b: Una solución de ((1-(6-amino-5-((3-amino-2-clorofeniltio)pirazin-2-il)-4-fluoropiperidin-4-il)metil)carbamato de tert-butilo (60 mg, 0.124 mmol) y HCl (4 M en dioxano, 311 μ L, 1.242 mmol) en MeOH (100 μ L) se agitó durante 16 h a TA. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 25-50% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA). Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El residuo resultante se trató con HCl, y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar 3-((3-amino-2-clorofeniltio)-6-(4-(aminometil)-4-fluoropiperidin-1-il)pirazin-2-amina (38 mg, 0.086 mmol). sal de HCl. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7.71 (s, 1 H), 7.12 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.94-7.03 (m, 1 H), 6.49 (dd, $J=7.9, 1.1$ Hz, 1 H), 4.42 (d, $J=14.1$ Hz, 2 H), 3.32-3.42 (m, 4 H), 1.99-2.12 (m, 2 H), 1.74-1.96 (m, 2 H). HRMS calculado para $C_{16}H_{21}ClFN_6S$ (M+H)⁺ 383.1221, encontrado 383.1209. IC₅₀ es 0.271 μ M.

40 Los siguientes compuestos se sintetizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la correspondiente amina protegida con Boc y el intermedio de cloro-pirazina (o cloropiridina)

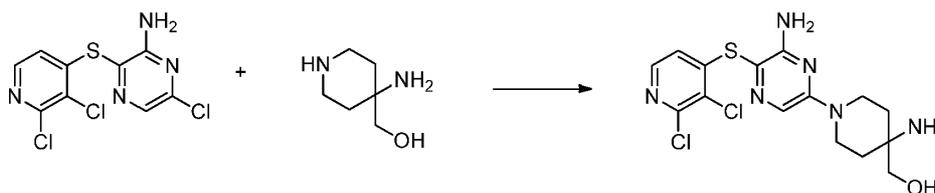
Tabla 10

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μ M)
45		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8.45 (dd, <i>J</i> =4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.73 (d, <i>J</i> =2.6 Hz, 1 H), 7.53 (dd, <i>J</i> =8.2, 4.5 Hz, 1 H), 7.19 (dd, <i>J</i> =8.3, 1.4 Hz, 1 H), 6.65 (d, <i>J</i> =2.7 Hz, 1 H), 5.38 (s, 2 H), 3.13-3.03 (m, 2 H), 2.43 (s, 2 H), 1.56-1.45 (m, 2 H), 1.38-1.30 (m, 2 H), 0.91 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₈ H ₂₃ F ₃ N ₅ S (M+H) ⁺ 398.1626, encontrado 398.1620.	0.351
46		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8.40 (dd, <i>J</i> =4.2, 1.7 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.51-7.34 (m, 2 H), 4.34-4.21 (m, 1 H), 4.17 (dt, <i>J</i> =13.5, 4.3 Hz, 1 H), 3.18 (ddd, <i>J</i> =13.5, 10.3, 3.3 Hz, 1 H), 3.04 (dd, <i>J</i> =13.4, 9.1 Hz, 1 H), 3.00-2.79 (m, 2 H), 1.97 (tt, <i>J</i> =10.4, 4.0 Hz, 2 H), 1.82 (dt, <i>J</i> =13.2, 4.3 Hz, 1 H), 1.70-1.53 (m, 1 H), 1.44 (ttd, <i>J</i> =13.4, 9.7, 4.0 Hz, 1 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ N ₆ F ₃ S (M+H) ⁺ 385.1422, encontrado 385.1344.	0.459
47		sal de HCl. ¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.95 (s, 3 H), 7.65 (s, 1 H), 6.88 (t, <i>J</i> =7.9 Hz, 1 H), 6.62 (dd, <i>J</i> =7.9, 1.5 Hz, 1 H), 6.07 (s, 5 H), 5.88 (dd, <i>J</i> =7.9, 1.5 Hz, 1 H), 4.02 (dt, <i>J</i> = 13.3, 4.2 Hz, 2 H), 3.31 (ddd, <i>J</i> =13.6, 10.4, 3.5 Hz, 2 H), 2.81 (d, <i>J</i> =5.8 Hz, 2 H), 1.58 (tdd, <i>J</i> =17.9, 9.0, 4.0 Hz, 4 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₂ ClN ₆ OS (M+H) ⁺ 381.1253, encontrado 381.1253.	0.382
48		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8.30 (d, <i>J</i> =2.3 Hz, 1 H), 8.10 (dd, <i>J</i> =5.3, 0.8 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 6.76 (dd, <i>J</i> =6.8, 5.3 Hz, 1 H), 3.96 (dt, <i>J</i> =13.7, 4.8 Hz, 2 H), 3.42 (ddd, <i>J</i> =13.6, 9.8, 3.5 Hz, 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.38-1.63 (m, 4 H), 1.06 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₂ FN ₆ S (M+H) ⁺ 349.1611, encontrado 349.1617.	0.177
49		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.98-8.05 (m, 1 H), 7.59-7.64 (m, 1 H), 6.58-6.67 (m, 1 H), 4.00 (dt, <i>J</i> =13.7, 4.8 Hz, 2 H), 3.45 (ddd, <i>J</i> =13.6, 9.8, 3.8 Hz, 2 H), 2.60 (s, 2H), 1.40-1.65 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₁ Cl ₂ N ₆ S (M+H) ⁺ 399.0925, encontrado 399.0939.	0.100
50		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.59 (d, <i>J</i> =5.5 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 5.91 (d, <i>J</i> =5.6 Hz, 1 H), 3.78-3.69 (m, 2 H), 3.62-3.52 (m, 2 H), 2.64 (s, 2H), 1.57-1.48 (m, 6 H), 0.88 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 3 H). HRMS calculado para	0.059

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
		C ₁₇ H ₂₅ ClN ₇ S (M+H) ⁺ 394.1581, encontrado 394.1573.	
51		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.59 (d, <i>J</i> =5.5 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 5.91 (d, <i>J</i> =5.5 Hz, 1 H), 3.78-3.69 (m, 2 H), 3.61-3.53 (m, 2 H), 2.64 (s, 2H), 1.56-1.49 (m, 4 H), 1.47-1.40 (m, 2 H), 1.35-1.26 (m, 2 H), 0.97 (t, <i>J</i> =7.0 Hz, 3 H). HRMS calculado para C ₁₈ H ₂₇ ClN ₇ S (M+H) ⁺ 408.1737, encontrado 408.1730.	0.017

Ejemplo 52

(4-amino-1-(6-amino-5-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-il)piperidin-4-il)metanol



5

Una solución de 6-cloro-3-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-amina (54.5 mg, 0.177 mmol) y (4-aminopiperidin-4-il)metanol (48 mg, 0.236 mmol) en NMP (1 mL) y DIPEA (1.00 mL) se agitó durante 16 h a 120 °C. Después de enfriar hasta TA, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de sílica (gradiente de 0 a 39% de MeOH/DCM) para dar (4-amino-1-(6-amino-5-((2,3-dicloropiridin-4-il)tio)pirazin-2-il)piperidin-4-il)metanol (34 mg, 0.084). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.10 (d, *J*=5.2 Hz, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 6.57 (d, *J*=5.3 Hz, 1 H), 6.26 (s, 2 H), 4.70 (s, 1 H), 4.03-3.90 (m, 2 H), 3.48-3.35 (m, 2 H), 3.19 (d, *J*=4.5 Hz, 2 H), 1.59-1.46 (m, 2 H), 1.39-1.27 (m, 2 H). HRMS calculado para C₁₅H₁₉Cl₂N₆OS (M+H)⁺ 401.0713, encontrado 401.0725. IC₅₀ es 0.062 μM.

10

Los siguientes compuestos se sintetizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el correspondiente intermedio de amina y cloro-pirazina.

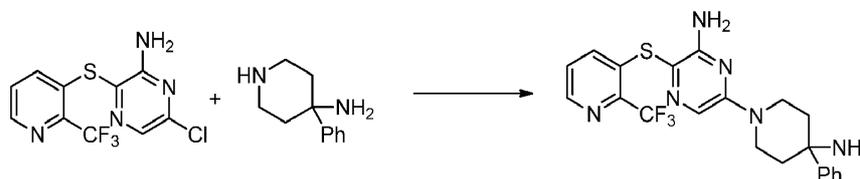
15

Tabla 11

Ejemplo	Compuesto	Caracterización	IC ₅₀ (μM)
53		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7.67-7.59 (m, 2 H), 6.24 (s, 2 H), 6.08 (s, 2 H), 5.74 (d, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 4.61 (s, 1 H), 4.04-3.92 (m, 2 H), 3.18-3.11 (m, 2 H), 1.56-1.43 (m, 2 H), 1.40-1.21 (m, 4 H). Para dilucidar los protones oscurecidos se agregó D ₂ O y se retomó el ¹ H RMN. ¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ /D ₂ O (10 μL)) δ ppm 7.69-7.56 (m, 2 H), 6.21 (s, 1 H), 6.06 (s, 1 H), 5.76 (d, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 4.03-3.90 (m, 2 H), 3.41-3.29 (m, 2 H), 3.16 (s, 2 H), 1.58-1.43 (m, 2 H), 1.37-1.25 (m, 2 H). HRMS calculado para C ₁₅ H ₂₁ ClN ₇ OS (M+H) ⁺ 382.1211, encontrado 382.1265.	0.315
54		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8.46 (dd, <i>J</i> =4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.55 (dd, <i>J</i> =8.2, 4.5 Hz, 1 H), 7.39-7.23 (m, 1 H), 6.14 (s, 2 H), 4.64 (t, <i>J</i> =5.3 Hz, 1 H), 4.07-3.89 (m, 2 H), 3.41-3.33 (m, 2 H), 3.19-3.14 (m, 2 H), 1.91-1.37 (m, 4 H), 1.38-1.23 (m, 2 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₀ F ₃ N ₆ OS (M+H) ⁺ 401.1366, encontrado 401.1369.	0.170
55		¹ H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7.56 (s, 1 H), 5.77 (s, 1 H), 4.00-3.89 (m, 2 H), 3.41 (ddd, <i>J</i> =13.4, 9.7, 3.6 Hz, 2 H), 2.57 (s, 2 H), 1.62-1.36 (m, 4 H), 1.06 (s, 3 H). HRMS calculado para C ₁₆ H ₂₂ Cl ₂ N ₇ S (M+H) ⁺ 414.1034, encontrado 414.1012.	0.0177

Ejemplo 56

6-(4-amino-4-fenilpiperidin-1-yl)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-yl)thio)pirazin-2-amina



5

10

Una mezcla de 6-cloro-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-yl)thio)pirazin-2-amina (75 mg, 0.25 mmol) y 4-fenilpiperidin-4-amina (39 mg, 0.221 mmol) en NMP (1 mL) y DIPEA (200 μL) se agitó durante 16 h a 140 °C y durante 16 h a 100 °C. Después de enfriar hasta TA, los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó por HPLC (elución en gradiente 15-40% de acetonitrilo en agua, 0.1% de modificador de TFA) para dar 6-(4-amino-4-fenilpiperidin-1-yl)-3-((2-(trifluorometil)piridin-3-yl)thio)pirazin-2-amina (28 mg, 0.060 mmol). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8.40 (dd, *J*=4.3, 1.7 Hz, 1 H), 7.73-7.67 (m, 2 H), 7.65 (bm, 1 H), 7.60-7.54 (m, 2 H), 7.52-7.46 (m, 1 H), 7.45-7.36 (m, 2 H), 4.28-4.21 (m, 2 H), 3.31-3.19 (m, 2 H), 2.78-2.72 (m, 2 H), 2.17 (ddd, *J*=14.1, 10.4, 3.9 Hz, 2 H). HRMS calculado para C₂₁H₂₂F₃N₆S (M+H)⁺ 447.1579, encontrado 447.1585. IC₅₀ es 0.542 μM.

Ensayos

Los compuestos de la invención se evaluaron por su capacidad para inhibir selectivamente la actividad de SHP2. Las propiedades inhibitorias de los compuestos de la invención descritas en el presente documento pueden evidenciarse probando en uno cualquiera de los siguientes ensayos.

Ensayo de inhibición alostérica de SHP2

- 5 SHP2 se activa de forma alostérica a través de la unión de péptidos bis-tirosil-fosforilados a sus dominios de homología 2 de Src (SH2). La última etapa de activación conduce a la liberación de la interfaz autoinhibitoria de SHP2, que a su vez hace que la proteína tirosina fosfatasa (PTP) de SHP2 esté activa y disponible para el reconocimiento del sustrato y la catálisis de reacción. La actividad catalítica de SHP2 se monitorizó utilizando el sustrato sustituto DiFMUP en un formato de ensayo de fluorescencia rápida.
- 10 Más específicamente, las reacciones de fosfatasa se realizaron a temperatura ambiente en una placa de poliestireno negro de 384 pozos, fondo plano, ala baja, superficie sin unión (Corning, Cat# 3575) utilizando un volumen de reacción final de 25 μ L y las siguientes condiciones de regulador de ensayo: HEPES 60 mM, pH 7,2, NaCl 75 mM, KCl 75 mM, EDTA 1 mM, P-20 al 0,05%, DTT 5 mM.

- 15 La inhibición de SHP2 por los compuestos de la invención (concentraciones que varían de 0.003 a 100 μ M) se monitorizó utilizando un ensayo en el que se incubaron 0.5 nM de SHP2 con 0.5 μ M de péptido IRS1_pY1172 (dPEG8) pY1222 (secuencia: H2N-LN (pY)IDLDLV(dPEG8)LST(pY)ASINFQK-amida). Después de 30-60 minutos de incubación a 25 $^{\circ}$ C, se añadió a la reacción el sustrato sustituto DiFMUP (Invitrogen, Cat# D6567) y se incubó a 25 $^{\circ}$ C durante 30 minutos. Luego, la reacción se detuvo mediante la adición de 5 μ l de una solución 160 μ M de bpV (Phen) (Enzo Life Sciences Cat # ALX-270-204). La señal de fluorescencia se monitorizó utilizando un lector de microplacas (Envision, Perki-Elmer) utilizando longitudes de onda de excitación y emisión de 340 nm y 450 nm, respectivamente. Las curvas de respuesta a la dosis del inhibidor se analizaron mediante el ajuste de la curva de regresión IC_{50} normalizada con la normalización basada en el control. Los resultados de IC_{50} para los compuestos de la invención se muestran en los ejemplos y tablas 1-7 anteriores.
- 20

Ensayo celular p-ERK

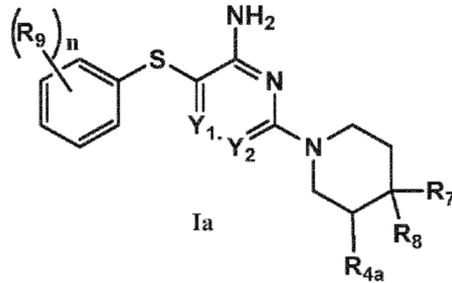
- 25 Ensayo celular p-ERK usando el kit AlphaScreen® SureFire™ Phospho-ERK 1/2 (PerkinElmer): Se cultivaron células KYSE-520 (30,000 células/pozo) en un cultivo de placa de 96 pozos durante la noche y se trataron con inhibidores de Shp2 a concentraciones de 20, 6.6, 2.2, 0.74, 0.24, 0.08, 0.027 μ M durante 2 horas a 37 $^{\circ}$ C. Las incubaciones se terminaron mediante la adición de 30 μ l de regulador de lisis (PerkinElmer) suministrado con el kit de ensayo de quinasa regulada por señal fosfo-extracelular SureFire (pERK) (PerkinElmer). Las muestras fueron procesadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La señal de fluorescencia de pERK se midió por duplicado utilizando un lector multilabel 2101 (Perkin Elmer Envision). El porcentaje de inhibición se normalizó mediante la señal ERK total y se comparó con el control del vehículo DMSO.
- 30

Ensayo de formación de colonias y ensayo de proliferación celular.

- 35 Las células KYSE-520 (1500 células/pozo) se colocaron en placas de 24 pozos en 300 μ l de medio (RPMI-1640 que contenía FBS al 10%, Lonza). Para el tratamiento con fármacos, los compuestos de la invención a diversas concentraciones (20, 10, 5, 2.5, 1.25 μ M) se agregaron 24 horas y 5 días después del recubrimiento celular. En el día 11, las colonias se tiñeron con cristal violeta al 0,2% (MP Biomedicals) y subsecuentemente se disolvieron en ácido acético al 20% para la cuantificación utilizando un lector Spectramax (Thermo Scientific). En el ensayo de proliferación celular, las células (1500 células/pozo) se colocaron en placas de 96 pozos en 100 μ l de medio (RPMI-1640 que contenía FBS al 10%, Lonza). El día 6, se agregaron 50 μ l de reactivo Celltiter-Glo (Promega) y la señal luminiscente se determinó de acuerdo con las instrucciones del proveedor (Promega).
- 40

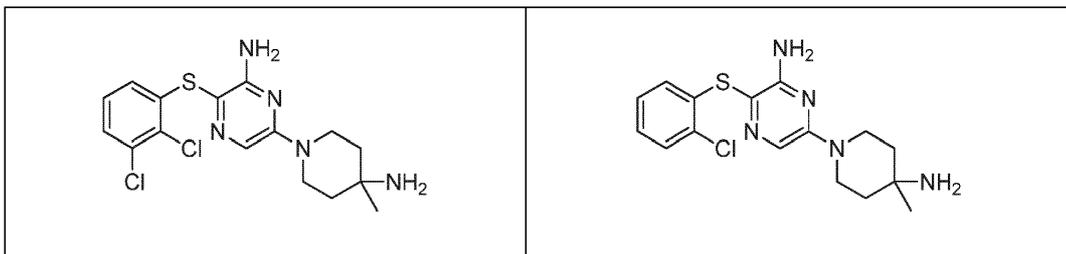
REIVINDICACIONES

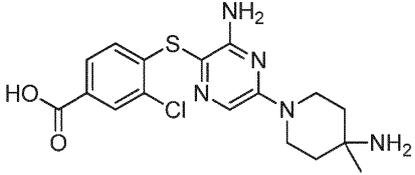
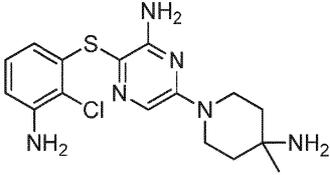
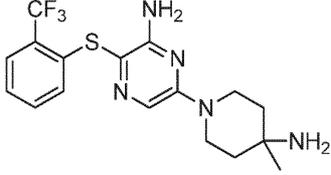
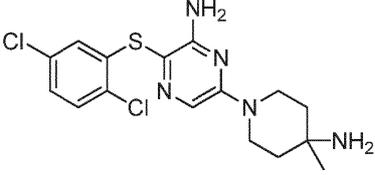
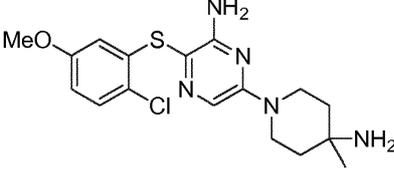
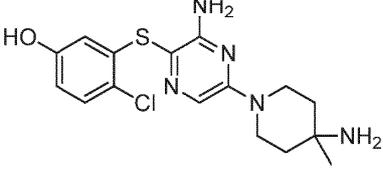
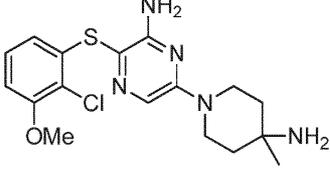
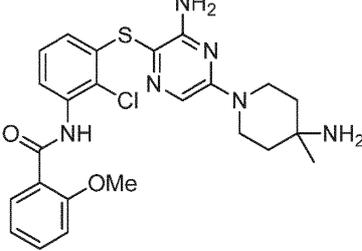
1. Un compuesto de Fórmula I:

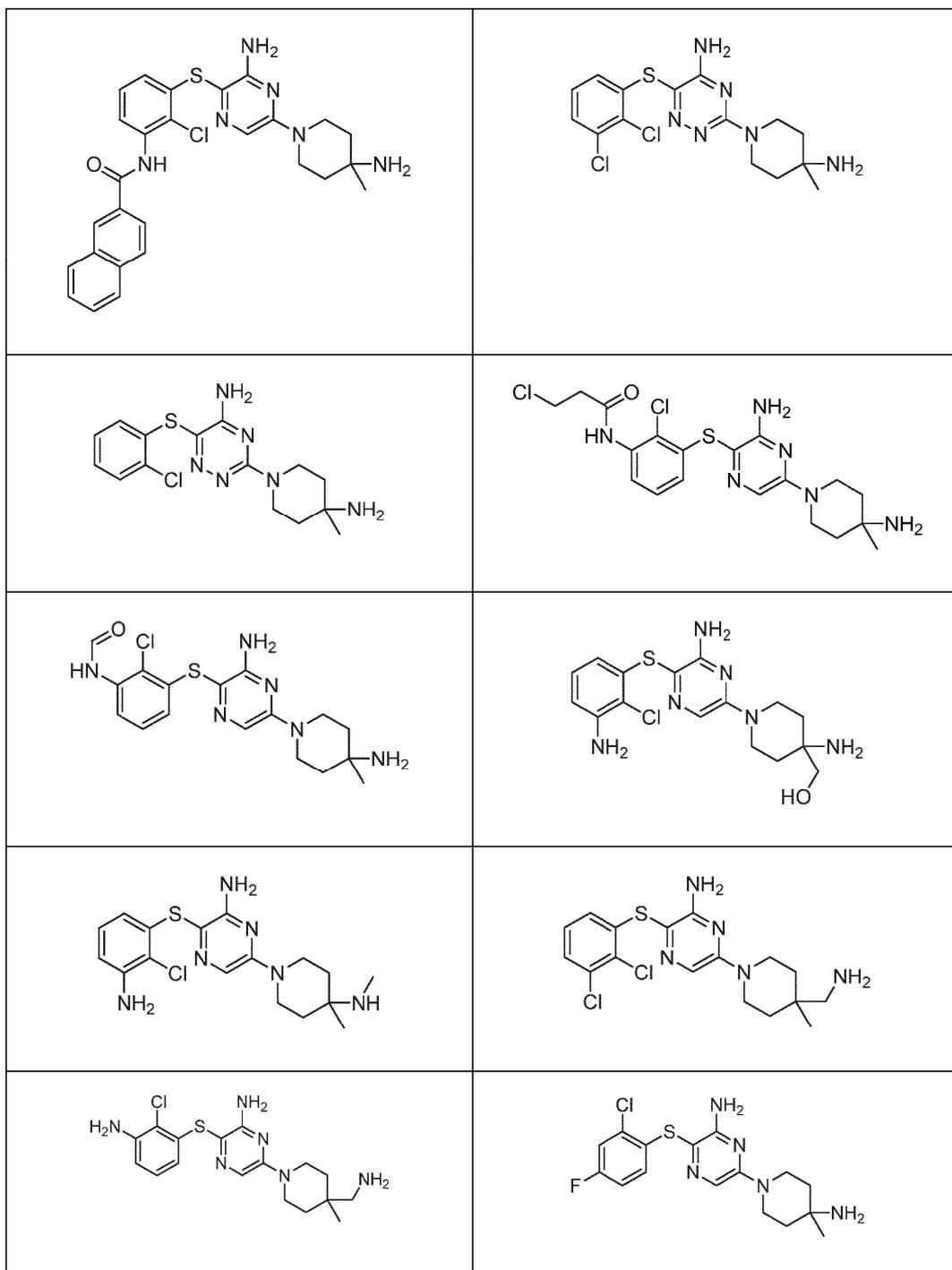


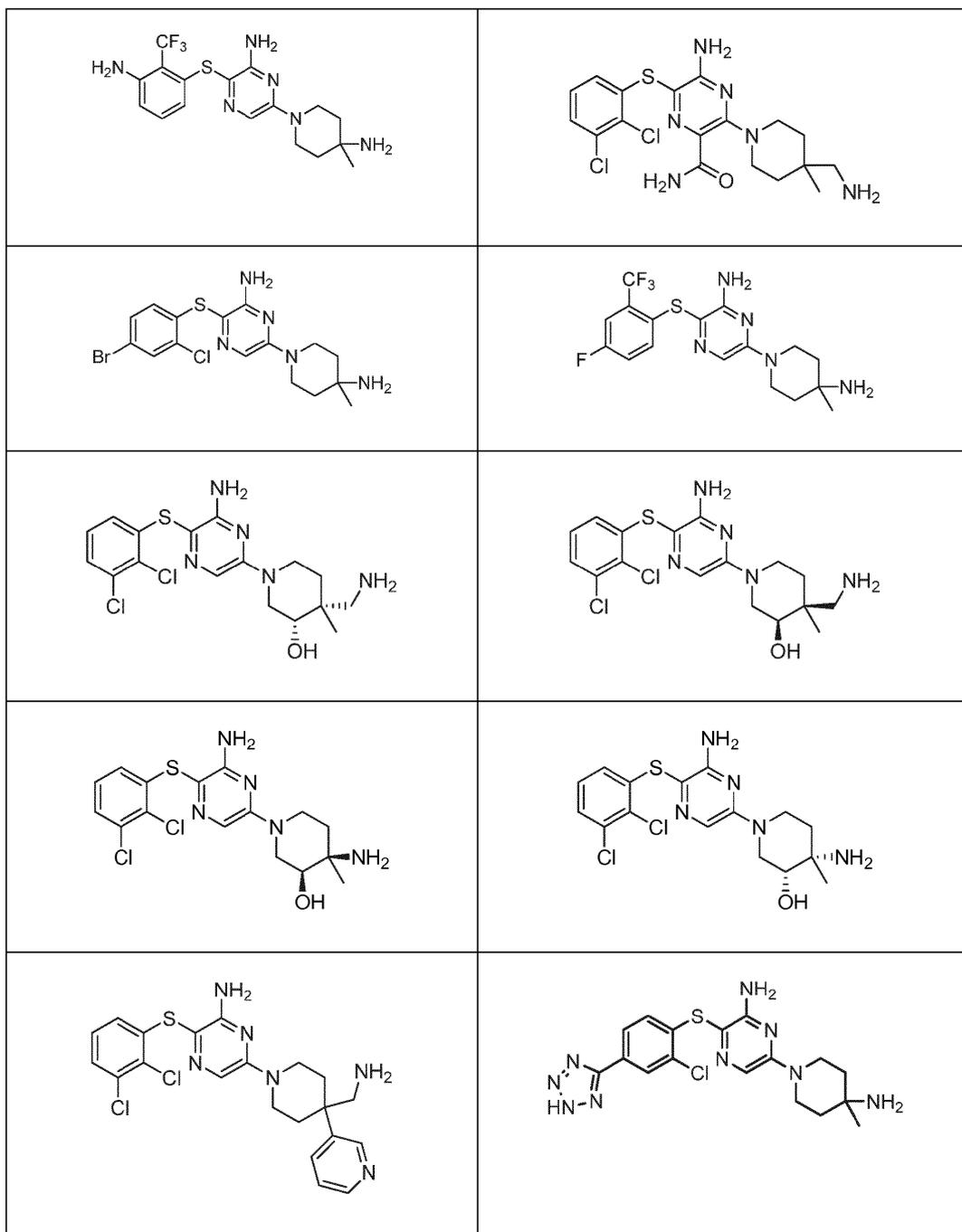
en la que:

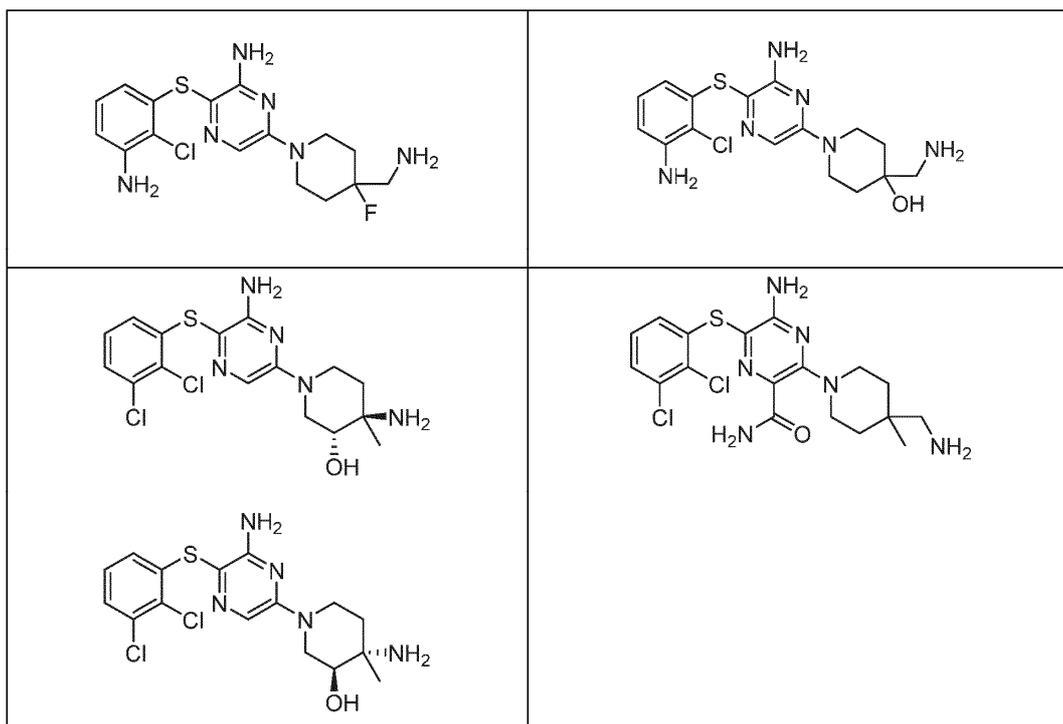
- 5 n se selecciona de 1, 2, 3, 4 y 5;
 Y₁ se selecciona de CH y N;
 Y₂ se selecciona de CR₆ y N;
 R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo;
 R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo;
- 10 R₇ se selecciona de hidrógeno, metilo, halo, hidroxilo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo;
 R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino;
 R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo;
- 15 R₁₀ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado de:



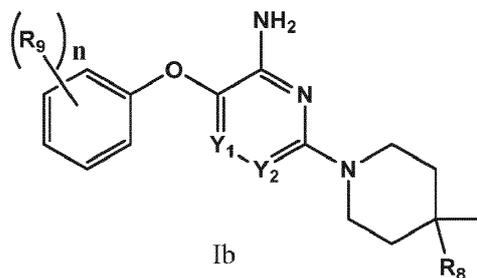
	
	
	
	
	





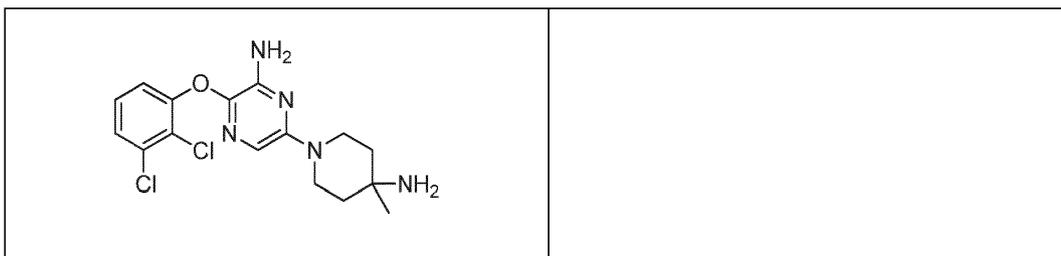


3. Un compuesto de Fórmula Ib:

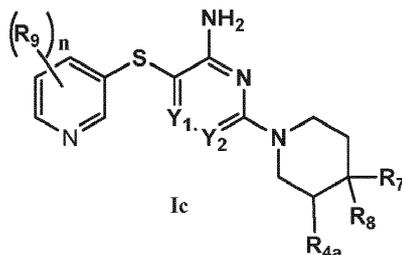


en la que:

- 5 n se selecciona de 1, 2, 3, 4 y 5;
 Y_1 se selecciona de CH y N;
 Y_2 se selecciona de CR_6 y N;
 R_6 se selecciona de hidrógeno, halo y metilo;
 R_8 se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino;
- 10 R_9 se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N_3 , C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi, C_{1-4} alquilo sustituido con halo, C_{1-4} alcoxi, -
 $C(O)OR_{10}$, - $NHC(O)R_{10}$ y tetrazolilo;
 R_{10} se selecciona de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R_{10} está sin sustituir o sustituido con metoxi;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. El compuesto de la reivindicación 3, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado de:

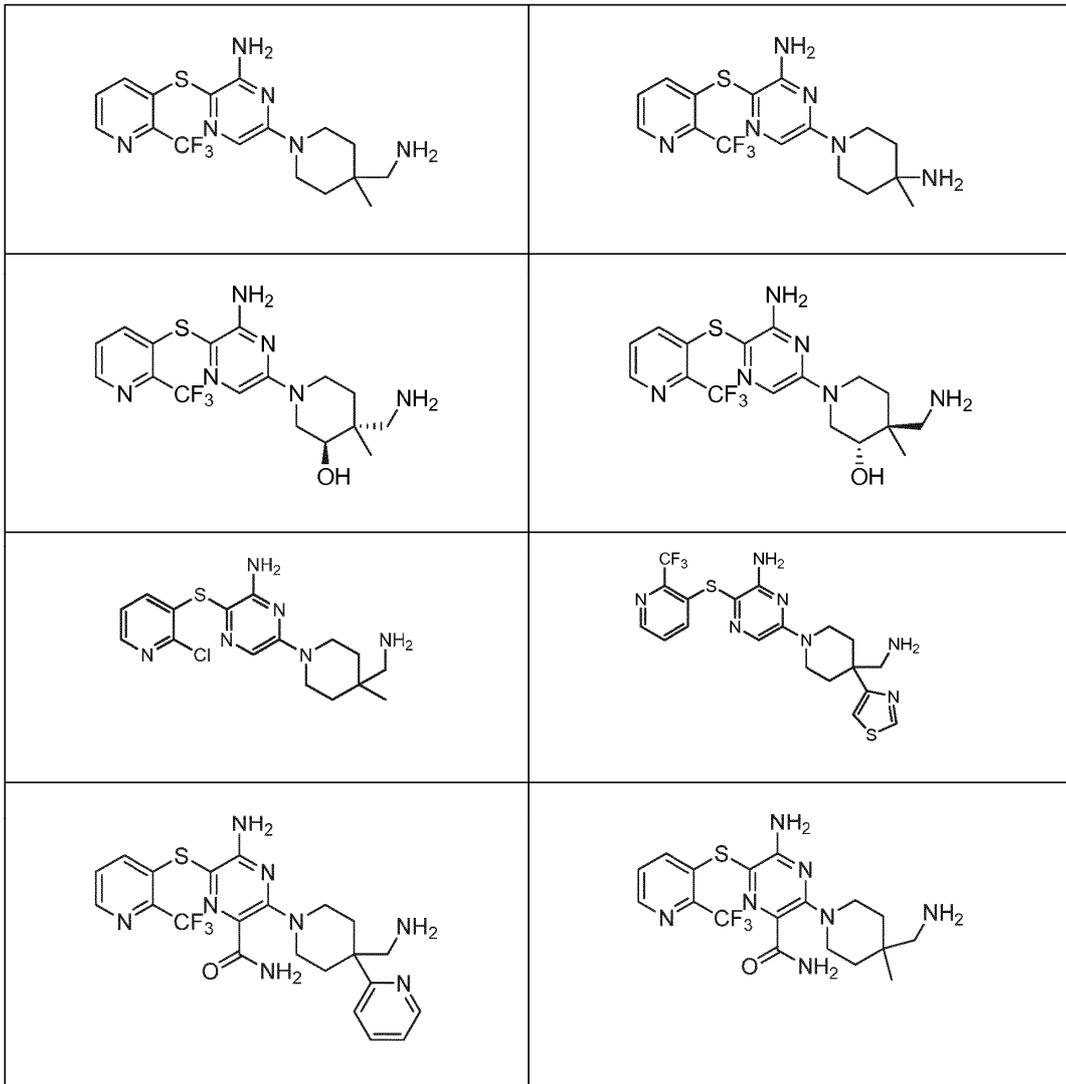


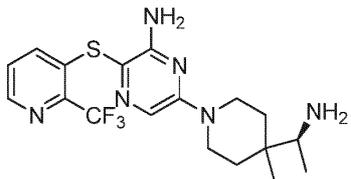
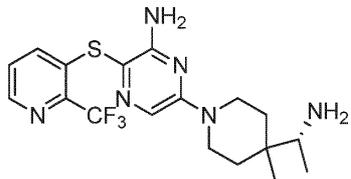
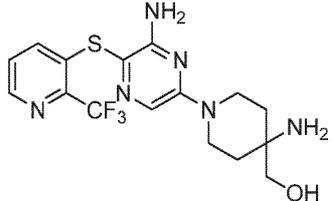
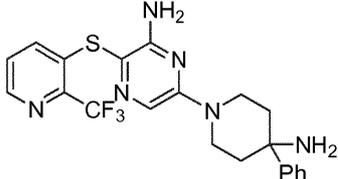
5. Un compuesto de Fórmula Ic:



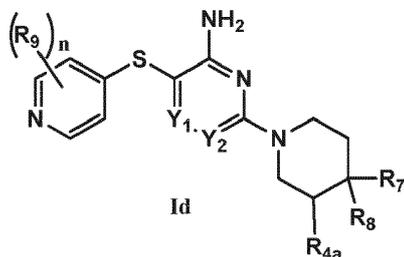
en la que:

- 5 n se selecciona de 1, 2, 3 y 4;
 Y₁ se selecciona de CH y N;
 Y₂ se selecciona de CR₆ y N;
 R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo;
 R₆ se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo;
- 10 R₇ se selecciona de hidrógeno, metilo, halo, hidroxilo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo;
 R₈ se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino;
 R₉ se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N₃, C₁₋₄alquilo, C₁₋₄alcoxi, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, C₁₋₄alcoxi, -C(O)OR₁₀, -NHC(O)R₁₀ y tetrazolilo;
- 15 R₁₀ se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R₁₀ está sin sustituir o sustituido con metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. El compuesto de la reivindicación 5, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado de:



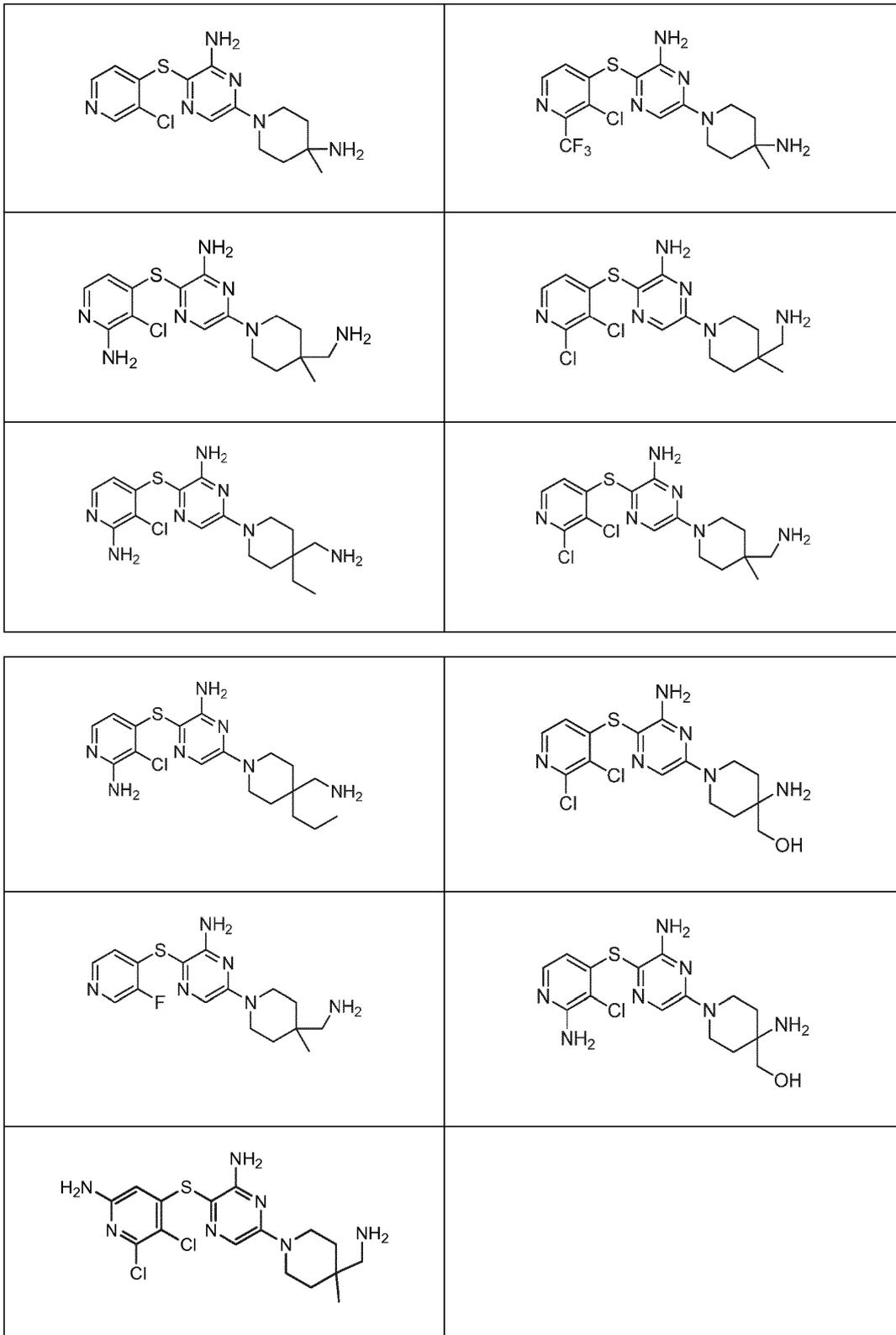
7. Un compuesto de Fórmula Id:



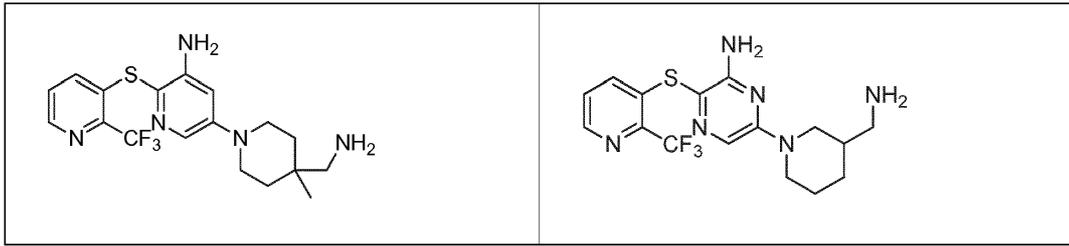
en la que:

- 5 n se selecciona de 1, 2, 3 y 4;
 Y_1 se selecciona de CH y N;
 Y_2 se selecciona de CR_6 y N;
 R_{4a} se selecciona de hidrógeno e hidroxilo;
 R_6 se selecciona de hidrógeno, halo, metilo y amino-carbonilo;
- 10 R_7 se selecciona de metilo, etilo, propil, hidroxilo, halo, hidroxilo-metilo, fenilo, piridinilo, pirazinilo y tiazolilo;
 R_8 se selecciona de amino, amino-metilo, 1-aminoetilo y metil-amino;
 R_9 se selecciona de halo, amino, hidroxilo, N_3 , C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi, C_{1-4} alquilo sustituido con halo, C_{1-4} alcoxi, $-C(O)OR_{10}$, $-NHC(O)R_{10}$ y tetrazolilo;
- 15 R_{10} se selecciona de hidrógeno, C_{1-4} alquilo sustituido con halo, fenilo y naftilo; en donde dicho fenilo de R_{10} está sin sustituir o sustituido con metoxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto de la reivindicación 7, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado de:

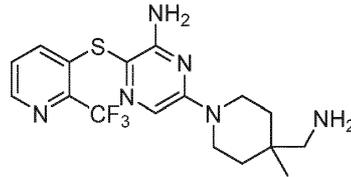


9. Un compuesto seleccionado de



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. Un compuesto que es



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones. 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

12. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento profiláctico o terapéutico de una enfermedad o trastorno mediado por la actividad de SHP2.

10 13. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 12, en donde la enfermedad o trastorno mediado por la actividad de SHP2 se selecciona de Síndrome de Noonan, Síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda, cáncer de mama, cáncer de esófago, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de cabeza, neuroblastoma, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma gástrico, linfoma anaplásico de células grandes y glioblastoma.

15 14. Una combinación de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones. 1-10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más compuestos farmacológicamente activos,

15. Una combinación como se reivindica en la reivindicación 14, en donde dicho compuesto o compuestos farmacológicamente activos son para uso en el tratamiento del cáncer.