

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 746 007**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404	(2006.01)	A61P 37/00	(2006.01)
A61K 31/506	(2006.01)		
C07D 401/14	(2006.01)		
C07D 403/12	(2006.01)		
C07D 405/14	(2006.01)		
C07D 403/14	(2006.01)		
C07D 417/14	(2006.01)		
C07D 487/14	(2006.01)		
A61P 29/00	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.02.2016 PCT/US2016/020095**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.09.2016 WO16138527**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.02.2016 E 16756548 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3261638**

54 Título: **Derivados de pirimidina como inhibidores de cinasa y sus aplicaciones terapéuticas**

30 Prioridad:

27.02.2015 WO PCT/US2015/018085

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

04.03.2020

73 Titular/es:

**NANTBIOSCIENCE, INC. (100.0%)
9920 Jefferson Boulevard
Culver City, CA 90232, US**

72 Inventor/es:

**TAO, CHUNLIN;
WANG, QINWEI;
NALLAN, LAXMAN;
HO, DAVID;
POLAT, TULAY;
ARP, FORREST y
WEINGARTEN, PAUL**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 746 007 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 pirimidina como inhibidores de cinasa y sus aplicaciones terapéuticas.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general al uso de compuestos para tratar una diversidad de trastornos, enfermedades y afecciones patológicas, y más concretamente al uso de derivados de pirimidina sustituida para modular las proteínas cinasas y para tratar enfermedades mediadas por proteína cinasa.

Antecedentes de la invención

10 Las proteínas cinasas constituyen grandes familias de enzimas proteínicas estructuralmente relacionadas que son responsables del control de numerosas vías de transducción de señales en la célula eucariota. Las proteínas cinasas, que contienen un dominio catalítico de 250-300 aminoácidos similares, catalizan la fosforilación de sustratos de proteínas diana. Como tales, las proteínas cinasas están entre las dianas farmacológicas de moléculas pequeñas más promisorias.

15 Las cinasas se pueden categorizar en familias por los sustratos en el fosforilado (p. ej., proteína tirosina, proteína serina/treonina, lípidos, etc.). La fosforilación de tirosinas es un evento central en la regulación de una diversidad de procesos biológicos tales como proliferación, migración, diferenciación y supervivencia celular. Varias familias de receptores y no receptores de tirosina cinasas controlan estos eventos catalizando la transferencia de fosfato de ATP a un residuo tirosina de dianas de proteínas de células específicas. Se han identificado motivos de secuencia que en general corresponden a cada una de estas familias de cinasas [Hanks et al., FASEB J., (1995), 9, 576-596; Knighton et al., Science, (1991), 253, 407-414; Garcia-Bustos et al., EMBO J., (1994), 13:2352-2361]. Los ejemplos de cinasas en las proteínas cinasas incluyen (sin limitación): abl, Akt, bcr-abl, Blk, Brk, Btk, c-kit, c-Met, c-src, c-fms, CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, CDK9, CDK10, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, Erk, Fak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, flt-1, Fps, Frk, Fyn, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, KDR, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, Tie, Tie-2, TRK, Yes y Zap70.

25 Los estudios indicaron que las proteínas cinasas cumplen una función central en la regulación y el mantenimiento de una amplia variedad de procesos celulares. Por ejemplo, la actividad de la cinasa actúa como conmutadores moleculares que regulan la proliferación, activación y/o diferenciación celular. La actividad excesiva o descontrolada de la cinasa, o bien de cinasas mutantes o de cinasas de tipo salvaje, se ha observado en muchas patologías, incluidos trastornos de proliferación benignos y malignos, además de enfermedades que resultan de la activación inapropiada del sistema inmune (trastornos autoinmunes), rechazo de aloinjertos y enfermedad injerto contra hospedante.

30 Se describe que muchas enfermedades se asocian con respuestas celulares anormales desencadenadas por eventos mediados por proteína cinasa. Estas enfermedades incluyen enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades óseas, enfermedades metabólicas, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, cáncer, enfermedades cardiovasculares, alergias y asma, enfermedad de Alzheimer y enfermedades hormonales. A su vez, los receptores de PTK específicos de células endoteliales, como VEGF-2 y Tie-2, median el proceso angiogénico y están implicados en dar soporte a la progresión de cáncer y otras enfermedades que implican vascularización descontrolada. Por consiguiente, se han hecho importantes intentos en la química medicinal por encontrar inhibidores de proteína cinasa que sean eficaces como agentes terapéuticos.

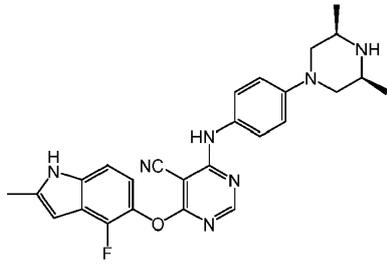
40 Muchos tipos de cáncer se caracterizan por rupturas en las vías de señalización celular que llevan al desarrollo descontrolado y a la proliferación de células cancerosas. El receptor de tirosina cinasas (RTK) cumple una función crucial en estas vías de señalización, transmitiendo señales moleculares extracelulares al citoplasma y/o núcleo de una célula. Las RTK son proteínas transmembrana que en general incluyen un dominio de unión al ligando extracelular, un dominio de expansión de membrana y un dominio de tirosina cinasa citoplásmico catalítico. Se cree que la unión del ligando a la porción extracelular promueve la dimerización, lo cual resulta en la trans-fosforilación y activación del dominio de tirosina cinasa intracelular (Schlessinger et al. Neuron 1992;9:383-391).

45 Considerando la falta de opciones de tratamiento actualmente disponibles para la mayoría de las afecciones asociadas con proteína cinasas, aún existe una gran necesidad de nuevos agentes terapéuticos que inhiban las proteínas cinasas. En particular, existe la necesidad de inhibidores de cinasa altamente activos que además no sean tóxicos y sean específicos de determinadas proteínas cinasas.

50 Compendio de la invención

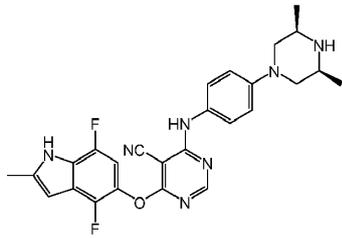
La invención se define con las siguientes realizaciones 1-12:

1. Un compuesto de fórmula



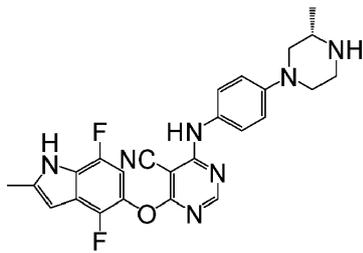
o su sal farmacéuticamente aceptable.

2. Un compuesto de fórmula



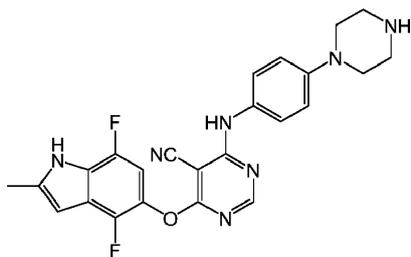
5 o su sal farmacéuticamente aceptable.

3. Un compuesto de fórmula



o su sal farmacéuticamente aceptable.

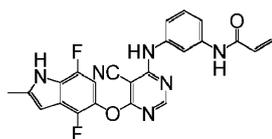
4. Un compuesto de fórmula



10

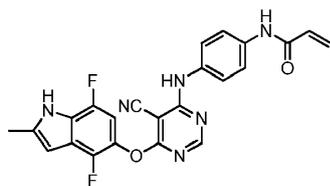
o su sal farmacéuticamente aceptable.

5. Un compuesto de fórmula



o su sal farmacéuticamente aceptable.

15 6. Un compuesto de fórmula

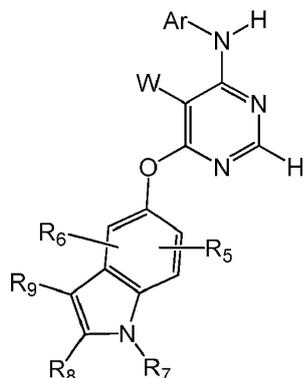


o su sal farmacéuticamente aceptable.

7. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de una cualquiera de las secciones 1-6 para uso en el tratamiento de un animal que padece un trastorno proliferativo celular en donde el uso comprende:

- 5 a. preparar, o causar que se prepare, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de una cualquiera de las secciones 1-6;
 - b. opcionalmente, formular o causar que se formule, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la etapa a con un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
 - 10 c. el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la etapa a o la formulación de la etapa b se ha de administrar, o se ha de causar que se administre, al animal que padece el trastorno proliferativo.
8. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso de acuerdo con la sección 7, en donde el animal es un mamífero.
9. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para uso según la sección 8, en donde el animal es un ser humano.
- 15 10. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las secciones 7-9, en donde el trastorno proliferativo celular es cáncer, un estado precanceroso, un tumor benigno, trastorno autoinmune, rechazo de trasplante, enfermedad injerto contra hospedante, respuesta a una infección, respuesta a un ataque del medio ambiente o un trastorno genético.
 - 20 11. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las secciones 7-9, en donde el trastorno proliferativo celular es cáncer.
 - 25 12. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la sección 11, en donde el cáncer es un cáncer de piel, cáncer de mama, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer de testículo, cáncer de próstata, cáncer nasofaríngeo, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer hepático, cáncer biliar, cáncer pancreático, linfoma, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de esófago, leucemia mieloide, leucemia linfocítica, trastorno mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico, linfoma, cáncer neuroendocrino, sarcoma o tumor cerebral.

Se describe también en la presente invención un compuesto de la fórmula

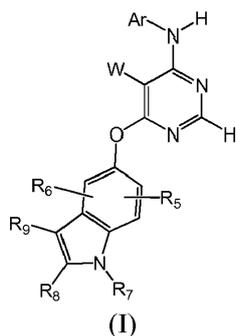


o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde:

- 30 W se selecciona entre: F, Cl, Br, I, CN, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, CF₃, CF₂H, CFH₂, alquino C₂-C₆, CON(R₁)R₂.

R₁ y R₂ representan hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, alquiltio, arilo, arilalquilo.

Ar representa heteroarilo o arilo, cada uno de los cuales se sustituye con entre 0 y 4 sustituyentes independientemente seleccionados entre:



o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde:

W se selecciona entre: F, Cl, Br, I, CN, alquilo C1-C4, alcoxi C1-C6, alqueno C2-C6, CF3, CF2H, CFH2, alquino C2-C6, CON(R1)R2.

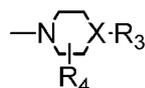
5 R1 y R2 representan hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, alquiltio, arilo, arilalquilo.

Ar representa heteroarilo o arilo, cada uno de los cuales está sustituido entre 0 y 4 sustituyentes seleccionados en forma independiente entre:

(1) halógeno, hidroxilo, amino, amida, ciano, -COOH, -SO₂NH₂, oxo, nitro y alcóxicarbonilo; y

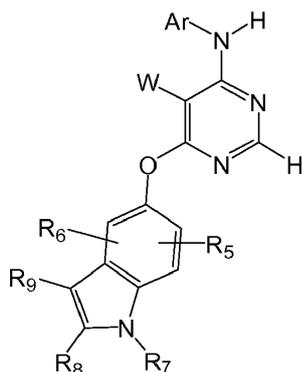
(2) NR1

10 (3) grupos de la fórmula (Ia):



Un compuesto de la fórmula,

o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde:



15 W se selecciona entre: F, Cl, Br, I, CN, alquilo C1-C4, alcoxi C1-C6, alqueno C2-C6, CF3, CF2H, CFH2, alquino C2-C6, CON(R1)R2.

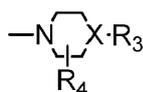
1. R1 y R2 representan hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, alquiltio, arilo, arilalquilo.

2. Ar representa heteroarilo o arilo, cada uno de los cuales está sustituido entre 0 y 4 sustituyentes seleccionados en forma independiente entre:

20 (1) halógeno, hidroxilo, amino, amida, ciano, -COOH, -SO₂NH₂, oxo, nitro y alcóxicarbonilo; y

(2) NR1

(3) grupos de la fórmula (Ia):



(Ia)

en donde:

R₄ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, oxo;

5 X es CH, cuando R₃ es hidrógeno; o X-R₃ es O; o X es N, R₃ representa grupos de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, arilo C₃-C₁₀ o heteroarilo, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, alcanóilo C₂-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alcanoiloxi C₂-C₆, mono- y di-(cicloalquil C₃-C₈)-amino-alquilo C₀-C₄, (heterociclo de 4 a 7 miembros)-alquilo C₀-C₄, alquilsulfonilo C₁-C₆, mono- y di-(alquil C₁-C₆) sulfonamido, y mono- y di-(alquil C₁-C₆)aminocarbonilo, cada uno de los cuales está sustituido entre 0 y 4 sustituyentes independientemente seleccionados entre halógeno, hidroxilo, ciano, amino, -COOH y oxo.

10 3. Los sustituyentes en el indol son los siguientes:

R₅ y R₆ se seleccionan en forma independiente entre: hidrógeno, F, Cl, Br, CN, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₆.

4. R₇, R₈ y R₉ se seleccionan en forma independiente entre hidrógeno, alquilo C₁-C₄, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, arilo C₃-C₁₀ o heteroarilo, alcoxi C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, alcanóilo C₂-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alcanoiloxi C₂-C₆.

15 5. Una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto según la reivindicación I o sus sales, hidratos, solvatos, sales en formas cristalinas y diastereoisómeros individuales farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable;

en donde:

R₄ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, oxo;

20 X es CH, cuando R₃ es hidrógeno; o X-R₃ es O; o X es N, R₃ representa grupos de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, arilo C₃-C₁₀ o heteroarilo, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, alcanóilo C₂-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alcanoiloxi C₂-C₆, mono- y di-(cicloalquil C₃-C₈)-amino-alquilo C₀-C₄, (heterociclo de 4 a 7 miembros)-alquilo C₀-C₄, alquilsulfonilo C₁-C₆, mono- y di-(alquil C₁-C₆) sulfonamido y mono- y di-(alquil C₁-C₆)aminocarbonilo, cada uno de los cuales está sustituido con entre 0 y 4 sustituyentes independientemente seleccionados entre halógeno, hidroxilo, ciano, amino, -COOH y oxo.

25 R₅ y R₆ se seleccionan en forma independiente entre: hidrógeno, F, Cl, Br, CN, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₆.

R₇, R₈ y R₉ se seleccionan en forma independiente entre hidrógeno, alquilo C₁-C₄, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, arilo C₃-C₁₀ o heteroarilo, alcoxi C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, alcanóilo C₂-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alcanoiloxi C₂-C₆.

El término "halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

30 El término "alquilo" en este documento solo o como parte de otro grupo se refiere a un radical derivado de alcano (hidrocarbonado) monovalente que contiene entre 1 y 12 átomos de carbono a menos que se defina algo distinto. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos en cualquier punto de sujeción disponible. Un grupo alquilo sustituido con otro grupo alquilo también se denomina "grupo alquilo ramificado". Los grupos alquilo ilustrativos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo y similares. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, entre otros, uno o más de los siguientes grupos: alquilo, arilo, halo (como F, Cl, Br, I), haloalquilo (tal como CCl₃ o CF₃), alcoxi, alquiltio, hidroxilo, carboxi (-COOH), alquiloxicarbonilo (-C(O)R), alquilcarboniloxi (-OCOR), amino (-NH₂), carbamóilo (-NHCOOR- o -OCONHR-), urea (-NHCONHR-) o tiol (-SH). En algunas realizaciones preferidas de la presente descripción, los grupos alquilo se sustituyen con, por ejemplo, amino, heterocicloalquilo, como grupos morfolina, piperazina, piperidina, azetidina, hidroxilo, metoxi o heteroarilo tal como pirrolidina.

40 El término "cicloalquilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo se refiere a anillos hidrocarbonados totalmente saturados y parcialmente insaturados de 3 a 9, preferiblemente 3 a 7 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo, y similares. A su vez, un cicloalquilo puede estar sustituido. Un cicloalquilo sustituido se refiere a dichos anillos que tienen uno, dos o tres sustituyentes, seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquinilo, nitro, ciano, oxo (=O), hidroxilo, alcoxi, tialquilo, -CO₂H, -C(=O)H, CO₂-alquilo, -C(=O)alquilo, ceto, =N-OH, =N-O-alquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, -NR'R", -C(=O)NR'R", -CO₂NR'R", -C(=O)NR'R", -NR'CO₂R", -NR'C(=O)R", -SO₂NR'R", y -NR'SO₂R", en donde cada uno de R' y R" se seleccionan en forma independiente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido y cicloalquilo, o R' y R" juntos forman un anillo heterociclo o heteroarilo.

- 5 El término "alquenilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, se refiere a un radical hidrocarbonado, lineal, ramificado o cíclico que contiene entre 2 y 12 átomos de carbono y por lo menos un enlace carbono a carbono. Los ejemplos de dichos grupos incluyen vinilo, alilo, 1-propenilo, isopropenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, 5-hexenilo, 1-heptenilo y similares. Los grupos alquenilo pueden además estar sustituidos en cualquier punto de sujeción disponible. Los sustituyentes ilustrativos para grupos alquenilo incluyen aquellos mencionados anteriormente para grupos alquilo, y especialmente incluyen grupos cicloalquilo C3 a C7 tales como ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo, que pueden además estar sustituidos con, por ejemplo, amino, oxo, hidroxilo, etc.
- 10 El término "alquinilo" se refiere a grupos alquino de cadena lineal o ramificada, que tienen uno o más enlaces carbono-carbono insaturados, por lo menos uno de los cuales es un triple enlace. Los grupos alquinilo incluyen grupos alquinilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₆ y alquinilo C₂-C₄, que tienen entre 2 y 8, 2 y 6 o 2 y 4 átomos de carbono, respectivamente. Los ejemplos ilustrativos del grupo alquinilo incluyen etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, pentenilo y hexenilo. Los grupos alquinilo pueden también estar sustituidos en cualquier punto de sujeción disponible. Los sustituyentes ilustrativos para grupos alquinilo incluyen aquellos enumerados anteriormente para grupos alquilo tales como amino, alquilamino, etc. Los subíndices después del símbolo "C" definen el número de átomos de carbono que puede contener un grupo particular.
- 15 El término "alcoxi" solo o como parte de otro grupo ilustra un grupo alquilo como se describió anteriormente enlazado a través de un enlace oxígeno (-O-). Los grupos alcoxi preferidos tienen entre 1 y 8 átomos de carbono. Los ejemplos de dichos grupos incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentiloxi, isopentiloxi, n-hexiloxi, ciclohexiloxi, n-heptiloxi, n-octiloxi y 2-etilhexiloxi.
- 20 El término "alquiltio" se refiere a un grupo alquilo como se describió anteriormente sujetado mediante un puente de azufre. Los grupos alcoxi y alquiltio preferidos son aquellos en los que el grupo alquilo se sujeta mediante el puente de heteroátomos. Los grupos alquiltio preferidos tienen entre 1 y 8 átomos de carbono. Los ejemplos de dichos grupos incluyen metiltio, etiltio, n-propiltiol, n-butiltiol y similares.
- 25 El término "oxo", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a un grupo ceto (C=O). Un grupo oxo que es un sustituyente de un átomo de carbono no aromático resulta en una conversión de -CH₂- a -C(=O)-.
- El término "alcoxicarbonilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, indica un grupo alcoxi enlazado a través de un grupo carbonilo. Un radical alcoxicarbonilo se representa mediante la fórmula: -C(O)OR, en donde el grupo R es un grupo alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, cicloalquilo, arilo o heteroarilo.
- 30 El término "arilalquilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, indica un anillo aromático enlazado a través de un grupo alquilo (tal como bencilo) como se describió anteriormente.
- El término "arilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, se refiere a anillos aromáticos monocíclicos o bicíclicos, p. ej., fenilo, fenilo sustituido y similares, además de grupos que se condensan, p. ej., naftilo, fenantrenilo y similares. Un grupo arilo contiene por lo tanto por lo menos un anillo que tiene por lo menos 6 átomos, en donde hasta cinco de dichos anillos están presentes, que contienen hasta 20 átomos allí, alternando (resonando) enlaces dobles entre átomos de carbono adyacentes o heteroátomos adecuados. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos incluidos, aunque sin limitarse a ello, halógeno como I, Br, F o Cl; alquilo, como metilo, etilo, propilo, alcoxi, tal como metoxi o etoxi, hidroxilo, carboxilo, carbamilo, alquiloalcoxicarbonilo, nitro, alqueniloxi, trifluorometilo, amino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, ciano, alquilo S(O)_m (m=0, 1, 2) o tiol.
- 35 El término "aromático" se refiere a una entidad molecular cíclicamente conjugada con una estabilidad, debido a la deslocalización, significativamente mayor que aquella de una estructura localizada hipotética, como la estructura Kekule.
- El término "amino" en este documento, solo o como parte de otro grupo, se refiere a -NH₂. Un "amino" puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes, tales como alquilo, arilo, arilalquilo, alquenilo, alquinilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, tioalquilo, carbonilo o carboxilo. Estos sustituyentes pueden además estar sustituidos con un ácido carboxílico, cualquiera de los sustituyentes alquilo o arilo expuestos en este documento. En algunas realizaciones, los grupos amino se sustituyen con carboxilo o carbonilo para formar derivados de N-acilo o N-carbamilo.
- 40 El término "alquilsulfonilo" se refiere a grupos de la fórmula (SO₂)-alquilo, en donde el átomo de azufre es el punto de sujeción. Preferiblemente, los grupos alquilsulfonilo incluyen grupos alquilsulfonilo C₁- C₆, que tienen entre 1 y 6 átomos de carbono. Metilsulfonilo es un grupo alquilsulfonilo representativo.
- El término "heteroátomo" se refiere a cualquier átomo distinto de carbono, por ejemplo, N, O o S.
- 50 El término "heteroarilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, se refiere a grupos monocíclicos sustituidos e insustituidos aromáticos de 5 o 6 miembros, grupos bicíclicos de 9 o 10 miembros y grupos tricíclicos
- 55

de 11 a 14 miembros que tienen por lo menos un heteroátomo (O, S o N) en por lo menos uno de los anillos. Cada anillo del grupo heteroarilo que contiene un heteroátomo puede contener uno o dos átomos de oxígeno o azufre y/o entre uno y cuatro átomos de nitrógeno siempre que el número total de heteroátomos en cada anillo sea cuatro o menos y cada anillo tenga por lo menos un átomo de carbono.

5 El término "heterociclo" o "heterocicloalquilo" en este documento, solo o como parte de otro grupo, se refiere a un grupo cicloalquilo (no aromático) en donde uno de los átomos de carbono en el anillo se reemplaza con un heteroátomo seleccionado entre O, S o N. El "heterociclo" tiene entre 1 y 3 anillos condensados, colgantes o espiro, por lo menos uno de los cuales es un anillo heterocíclico (es decir, uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo, en donde el resto de los átomos del anillo son carbono). El anillo heterocíclico puede estar
10 opcionalmente sustituido, lo que significa que el anillo heterocíclico puede estar sustituido en una o más posiciones del anillo sustituibles por uno o más grupos seleccionados en forma independiente entre alquilo (preferiblemente alquilo inferior), heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi (preferiblemente alcoxi inferior), nitro, monoalquilamino (preferiblemente un alquilamino inferior), dialquilamino (preferiblemente un alquilamino), ciano, halo, haloalquilo (preferiblemente trifluorometilo), alcanoílo, aminocarbonilo, monoalquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquilo amido (preferiblemente alquil amido inferior), alcoxialquilo (preferiblemente un alcoxi inferior; alquilo inferior),
15 alcoxicarbonilo (preferiblemente alcoxicarbonilo inferior), alquilcarbonilo (preferiblemente un alquilcarbonilo inferior) y arilo (preferiblemente fenilo), en donde dicho arilo está opcionalmente sustituido con grupos halo, alquilo inferior y alcoxi inferior. Un grupo heterocíclico puede en general estar unido mediante cualquier anillo o átomo sustituyente, siempre que resulte un compuesto estable. Los grupos heterocíclicos unidos en N se unen mediante un
20 componente del átomo de nitrógeno.

Típicamente, un anillo heterocíclico comprende 1-4 heteroátomos; dentro de determinadas realizaciones, cada anillo heterocíclico tiene 1 o 2 heteroátomos por anillo. Cada anillo heterocíclico contiene por lo general entre 3 y 8 miembros del anillo (anillos que tienen desde 7 miembros del anillo se mencionan en determinadas realizaciones), y heterociclos que comprenden anillos condensados, colgantes o espiro típicamente contienen entre 9 y 14 miembros
25 del anillo que consiste en átomos de carbono y contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y/o azufre.

Los ejemplos de grupos "heterociclo" o "heterocicloalquilo" incluyen piperazina, piperidina, morfina, tiomorfolina, pirrolidina, imidazolidina y tiazolida.

El término "sustituyente", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a un resto molecular que está
30 covalentemente unido a un átomo dentro de una molécula de interés. Por ejemplo, un "sustituyente del anillo" puede ser un resto tal como un halógeno, grupo alquilo, grupo haloalquilo u otro grupo analizado en este documento que se une covalentemente a un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o nitrógeno) que es un miembro del anillo.

La expresión "opcionalmente sustituido" si se refiere al arilo o heterocicilo u otro grupo puede estar sustituido en una o más posiciones sustituibles con uno o más grupos independientemente seleccionados entre alquilo
35 (preferiblemente alquilo inferior), alcoxi (preferiblemente alcoxi inferior), nitro, monoalquilamino (preferiblemente con uno a seis carbonos), dialquilamino (preferiblemente con uno a seis carbonos), ciano, halo, haloalquilo (preferiblemente trifluorometilo), alcanoílo, aminocarbonilo, monoalquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquil amido (preferiblemente alquil amido inferior), alcoxialquilo (preferiblemente un alcoxi inferior y alquilo inferior), alcoxicarbonilo (preferiblemente un alcoxicarbonilo inferior), alquilcarbonilo (preferiblemente un alquilcarbonilo inferior) y arilo (preferiblemente fenilo), en donde dicho arilo está opcionalmente sustituido con grupos halo, alquilo inferior y alcoxi inferior. La sustitución opcional también se indica con la frase "sustituido con 0 a X sustituyentes", en donde X es el número máximo de sustituyentes posibles. Ciertos grupos opcionalmente sustituidos están sustituidos entre 0 y 2, 3 o 4 sustituyentes independientemente seleccionados.
40

Un guión ("-") que no está entre dos letras o símbolos se usa para indicar un punto de sujeción para un sustituyente. Por ejemplo, $-\text{CONH}_2$ está unido a través del átomo de carbono.
45

Un ciclo que contiene un guión que se localiza dentro de un anillo heterociclo se usa para indicar un sistema conjugado. Los enlaces entre dos átomos pueden ser un enlace sencillo o doble. El término "cinasa" se refiere a cualquier enzima que cataliza la adición de grupos fosfato a un residuo de proteína; por ejemplo, las serina y treonina catalizan la adición de grupos fosfato a residuos serina y treonina.

50 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto o la composición farmacéutica que producirá la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que se cree que está siendo buscada por el investigador, veterinario, médico u otro terapeuta, p. ej., restauración o mantenimiento de vasculostasis o prevención del compromiso o pérdida o vasculostasis; reducción de carga tumoral; reducción de morbilidad y/o mortalidad.

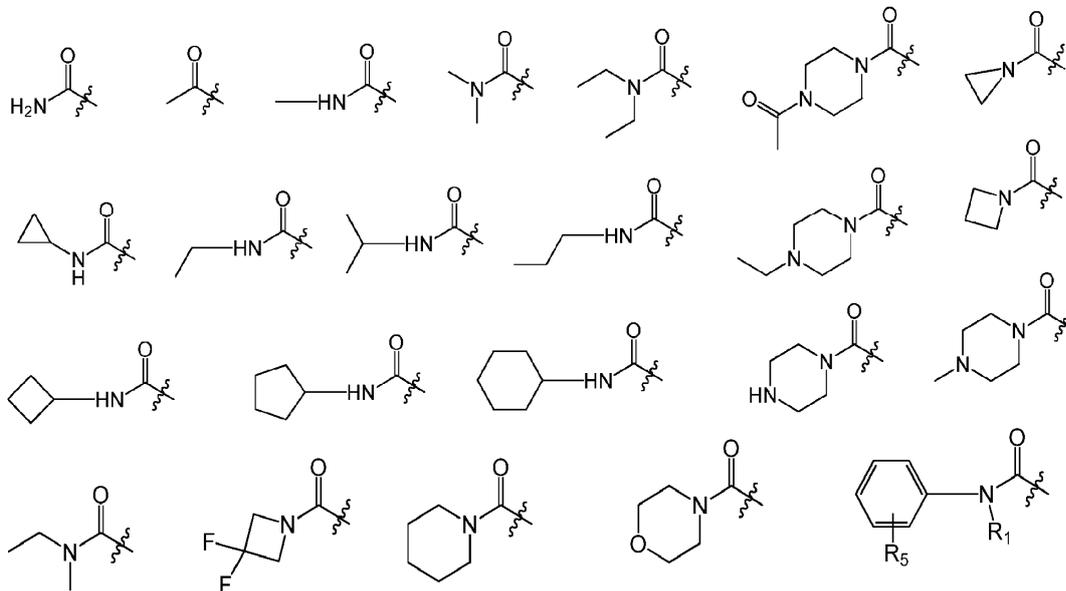
55 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere al hecho de que el vehículo, diluyente o excipiente sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para su receptor.

Las expresiones "administración de un compuesto" o "administrar un compuesto" se refiere a proporcionar un compuesto de la invención o composición farmacéutica al sujeto que necesita tratamiento.

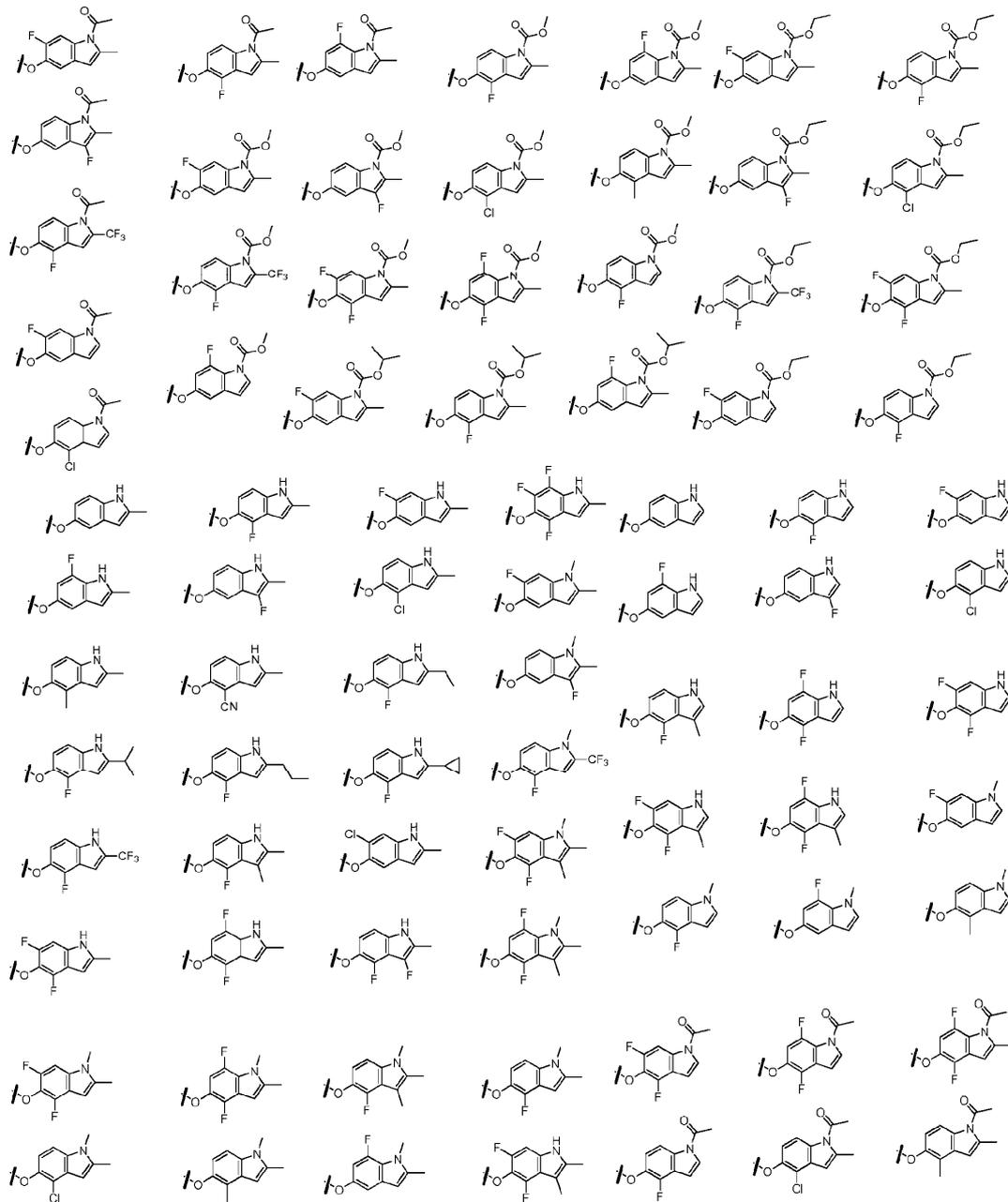
5 El término "protegido" se refiere a que el grupo está en forma modificada para impedir reacciones colaterales indeseadas en el sitio protegido. Los grupos protectores adecuados para los compuestos de la presente invención se reconocerán a partir de la presente solicitud que toma en cuenta el nivel de habilidad en la técnica, y con referencia a libros de texto estándar, como Greene, T. W. et al., Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York (1999).

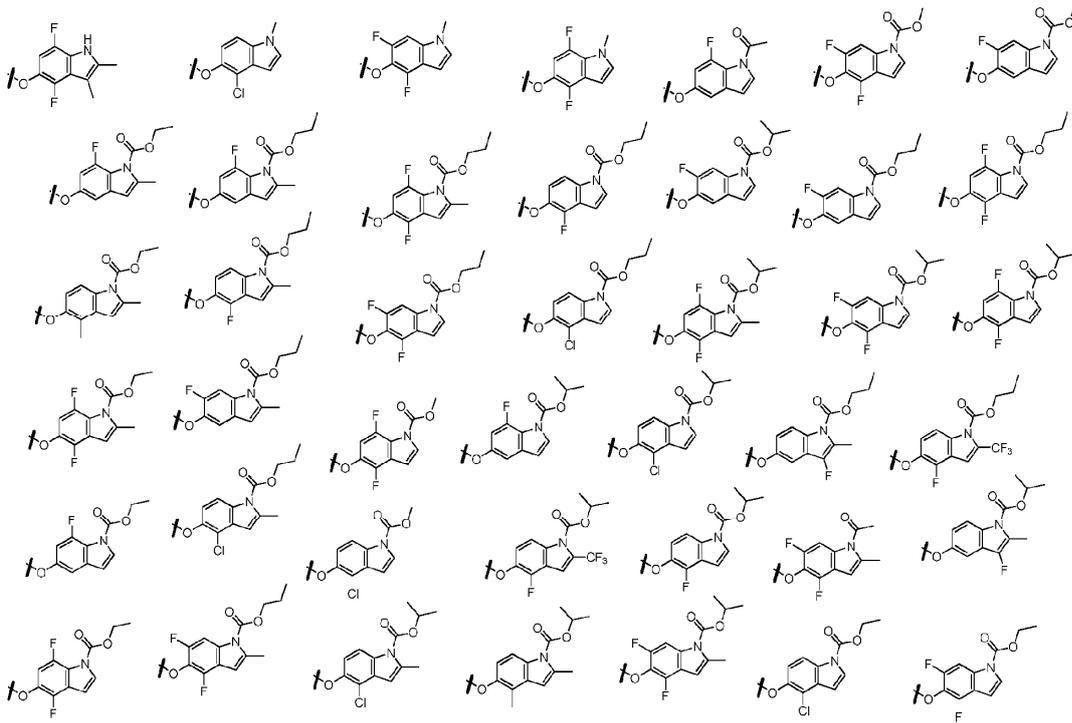
10 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto descrito en este documento es una sal de ácido o base que es adecuada para uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales sin toxicidad o carcinogenicidad excesiva, y preferiblemente sin irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación. Dichas sales incluyen sales de ácidos minerales y orgánicos de residuos básicos tales como aminas, además de sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales farmacéuticas específicas incluyen, aunque sin limitarse a ello, sales de ácidos tales como clorhídrico, fosfórico, bromhídrico, málico, glicólico, fumárico, sulfúrico, sulfámico, sulfanílico, fórmico, toluenosulfónico, metanosulfónico, bencenosulfónico, etanodisulfónico, 2-hidroxietilsulfónico, nítrico, benzoico, 2-acetoxibenzoico, cítrico, tartárico, láctico, esteárico, salicílico, glutámico, ascórbico, pamoico, succínico, fumárico, maleico, propiónico, hidroximaleico, yodhídrico, fenilacético, alcanoico tal como acético, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ en donde n es 0-4 y similares. De manera similar, los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin limitarse a ello, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio. Los expertos en la técnica reconocerán otras sales farmacéuticamente aceptables para los compuestos provistos en este documento. En general, una sal de ácido o base farmacéuticamente aceptable se puede sintetizar a partir de un compuesto parental que contiene un resto básico o ácido por cualquier método químico convencional. En síntesis, dichas sales se pueden preparar sometiendo a reacción las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, se prefiere el uso de medios no acuosos, como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Será obvio que cada compuesto de Fórmula I puede, pero no necesita, formularse como un hidrato, solvato o complejo no covalente. Además, las diversas formas cristalinas y polimorfos están dentro de la presente descripción. También se describen en este documento profármacos de los compuestos de Fórmula I.

Los grupos W preferidos de fórmula (I) son: F, Cl, Br, CN, CF_3 , CF_2H , CFH_2 , CH_3 , OCH_3 , NH_2 y la lista que sigue:



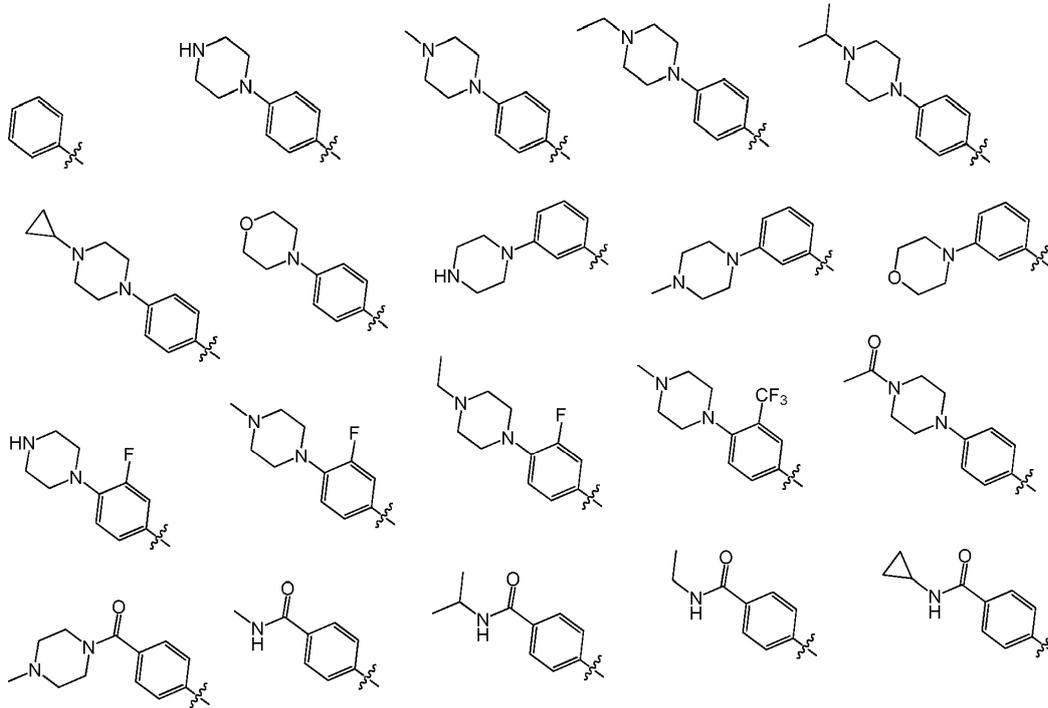
Los grupos indol sustituidos preferidos de fórmula (I) se mencionan a continuación:

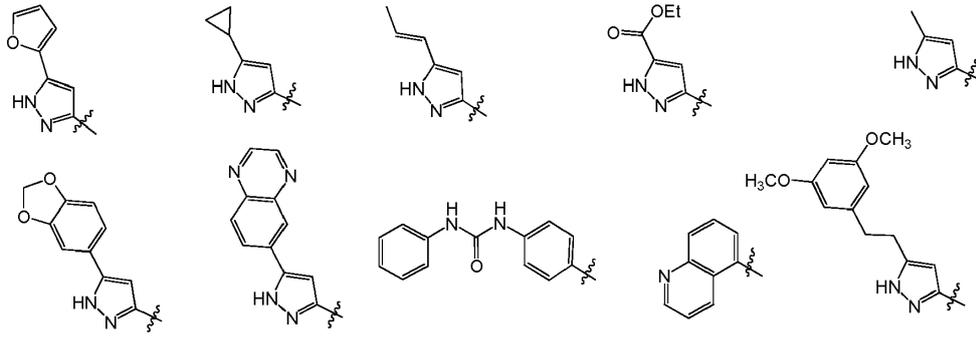




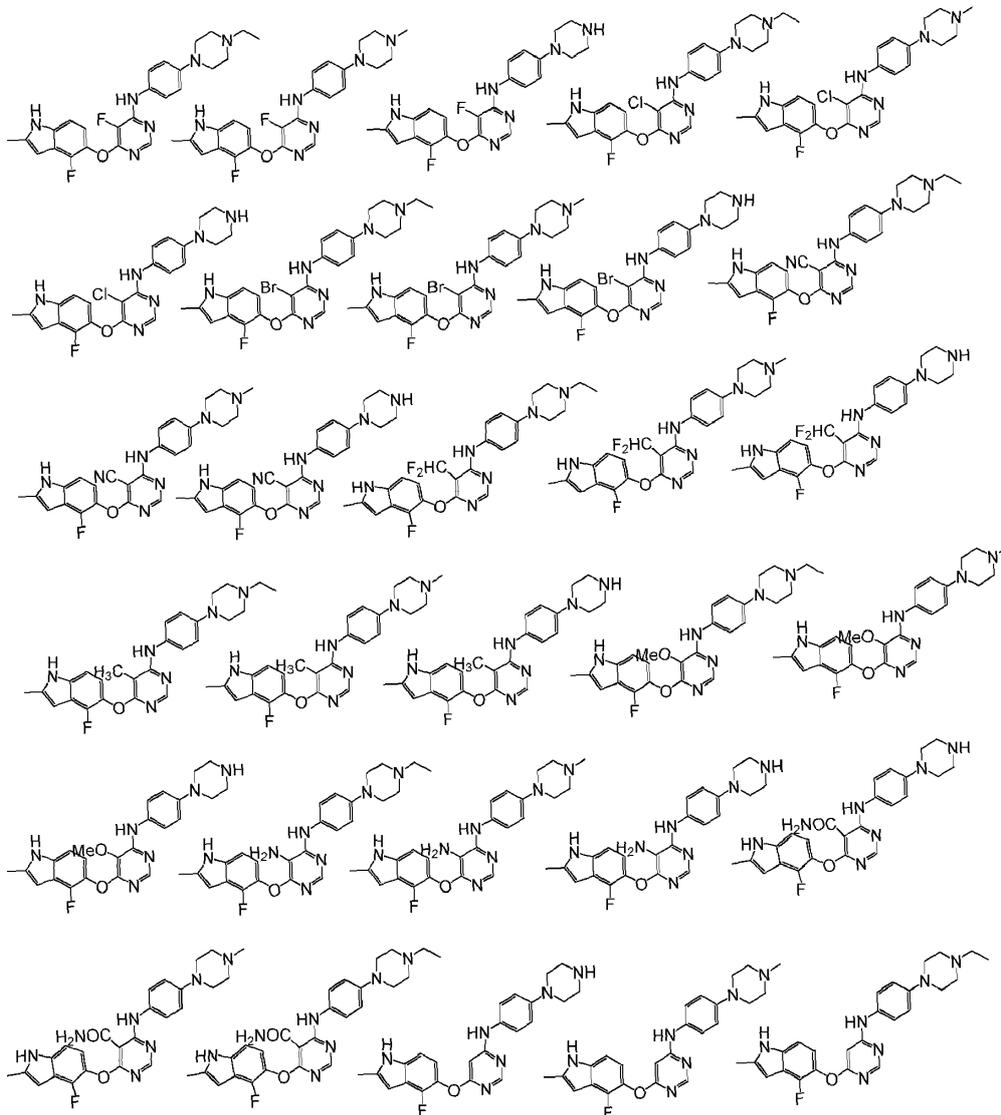
Los grupos Ar preferidos de fórmula (I) son los siguientes:

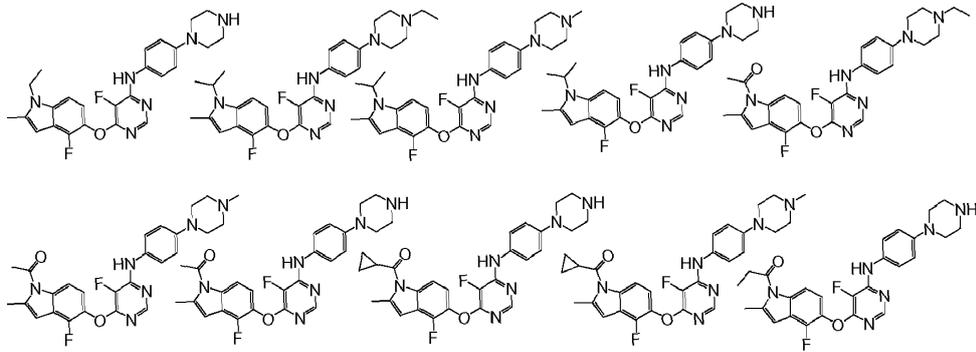
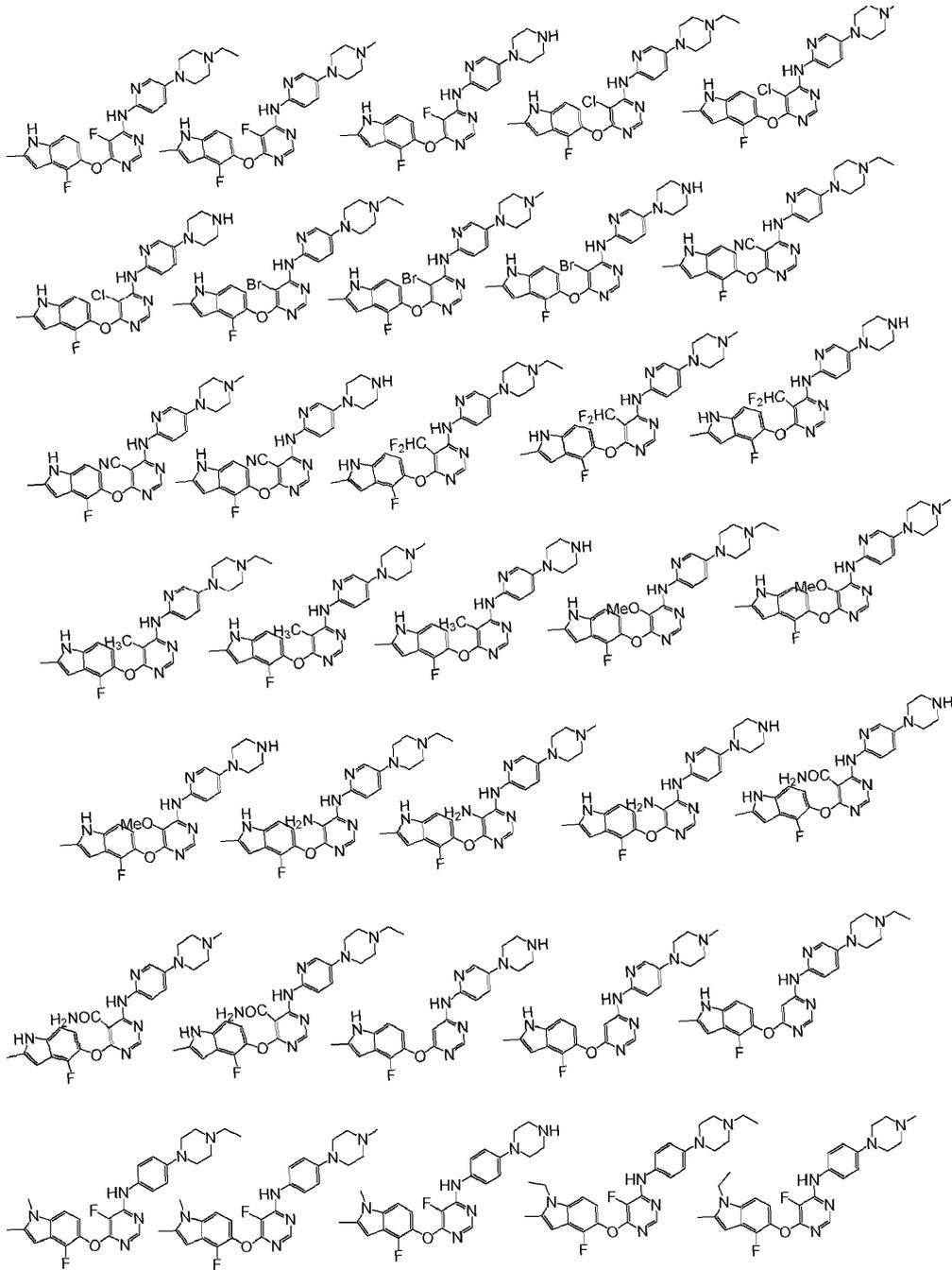
5

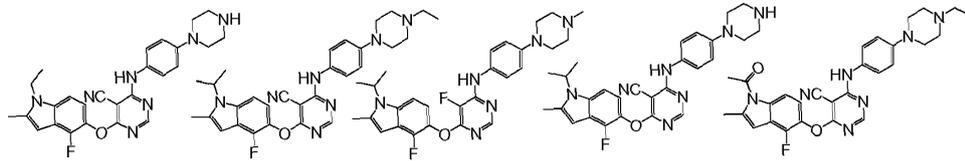
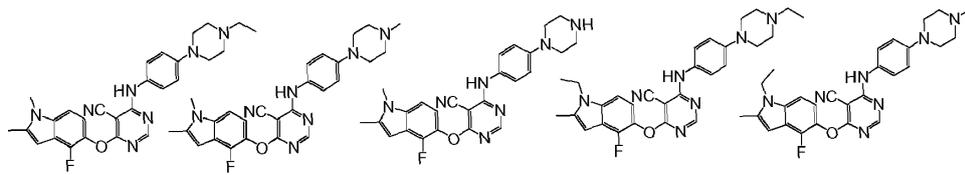




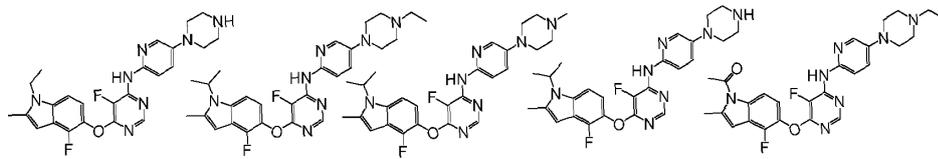
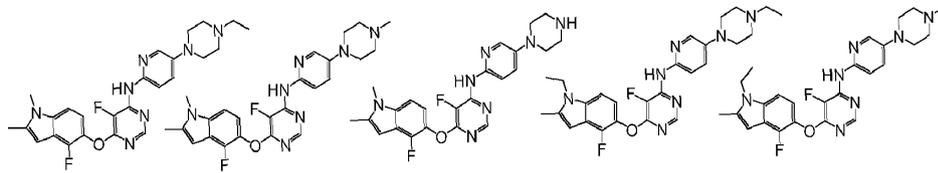
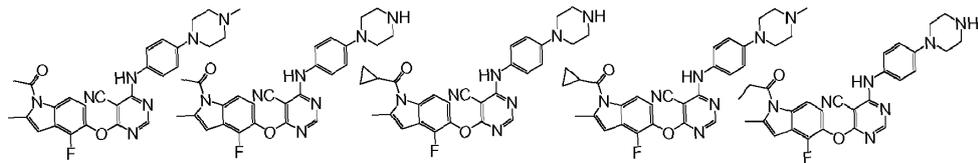
Los ejemplos de compuestos específicos de la presente descripción son aquellos compuestos definidos a continuación:



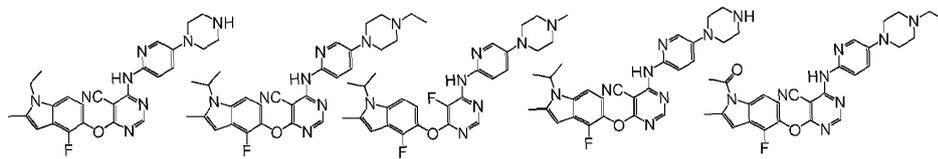
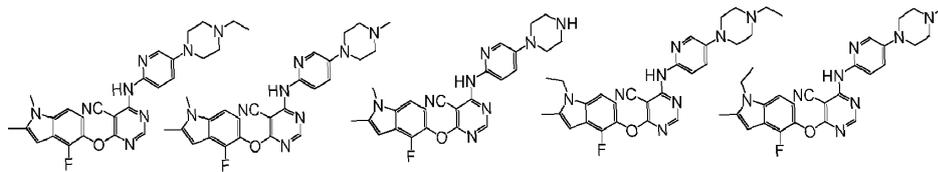
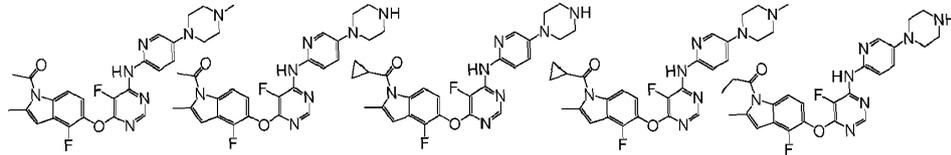




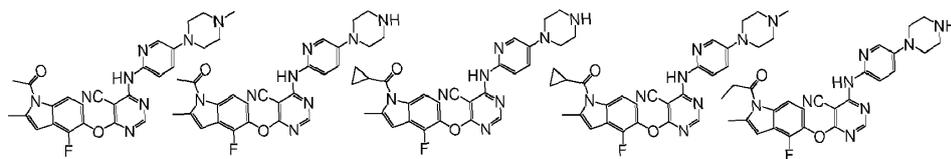
5

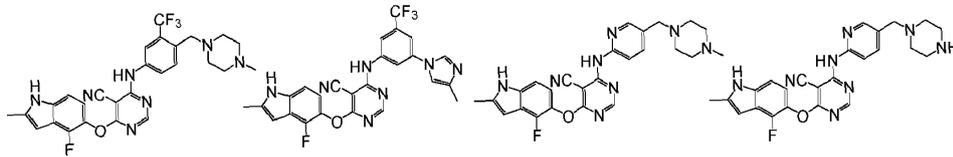
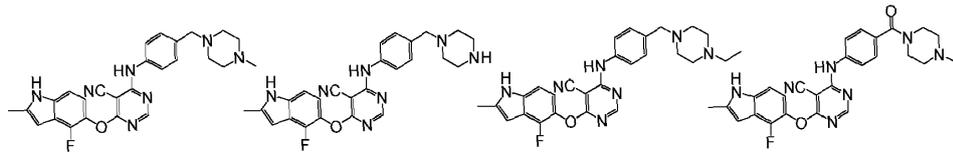
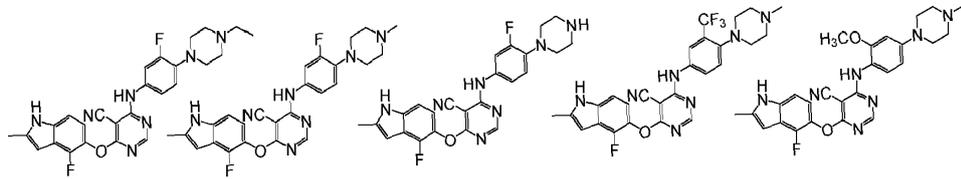
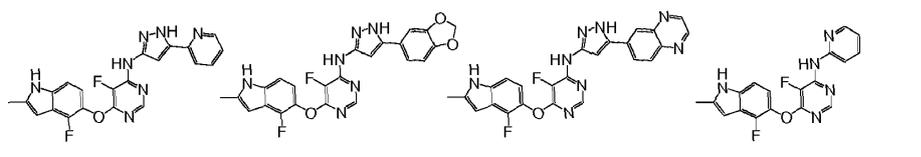
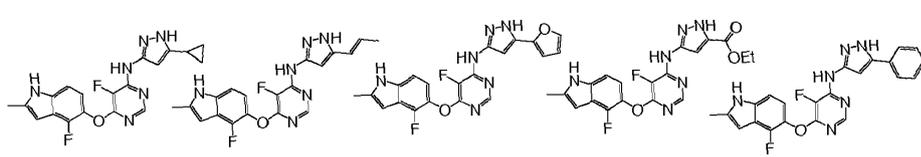
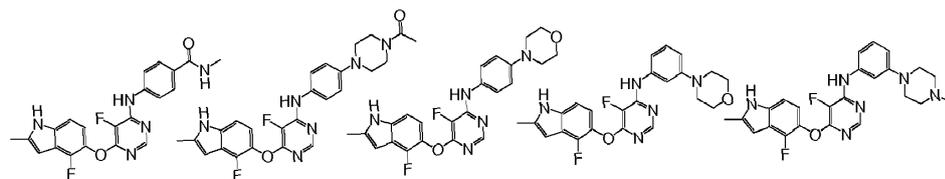
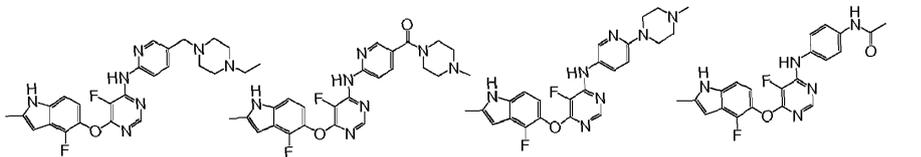
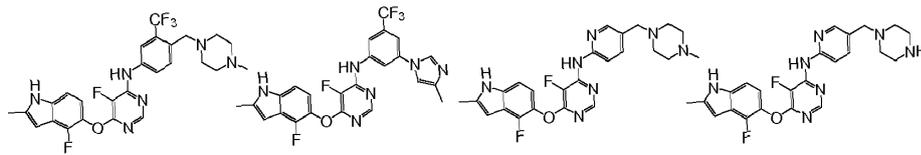
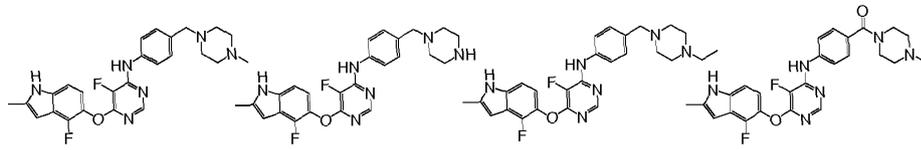
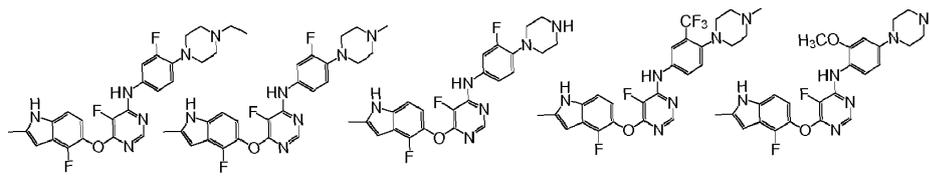


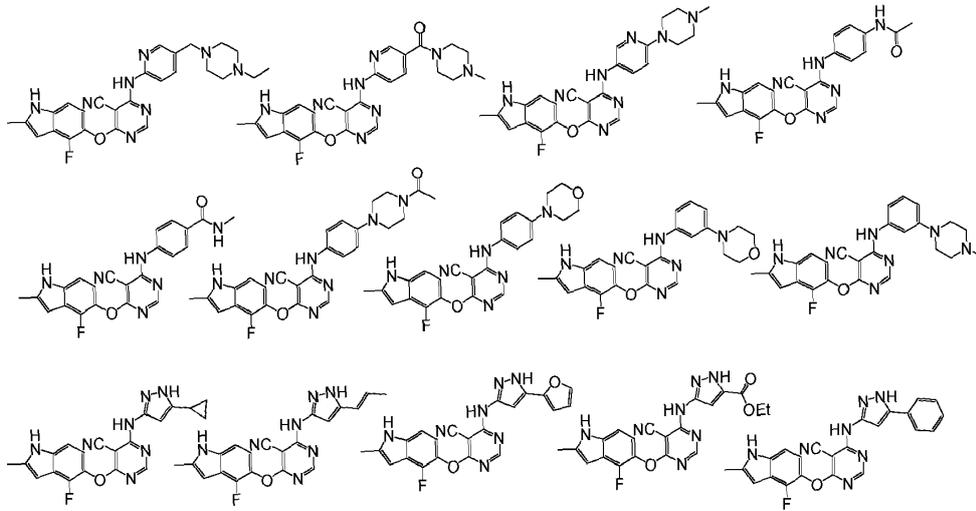
10



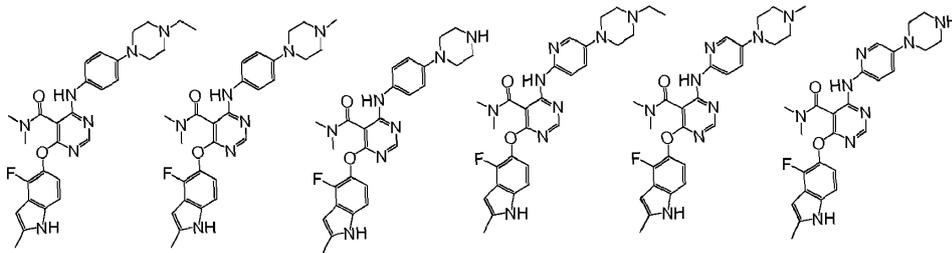
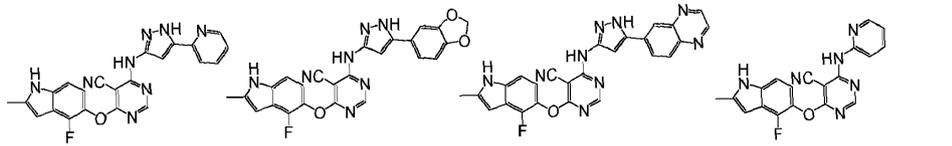
15



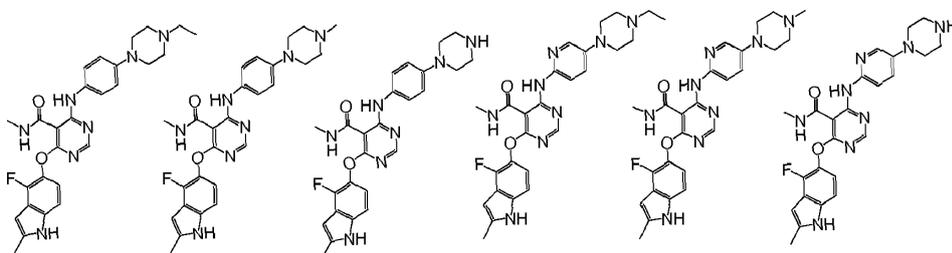
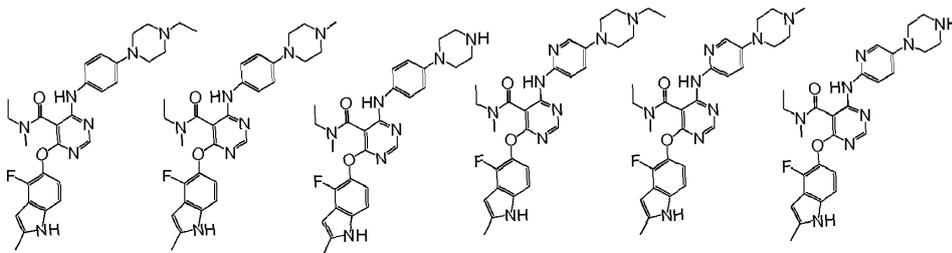


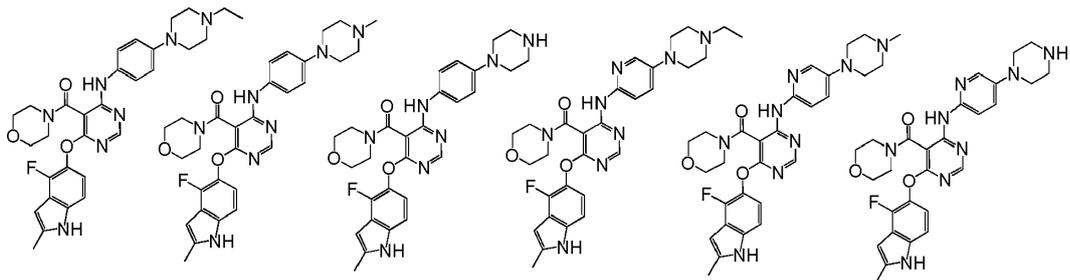
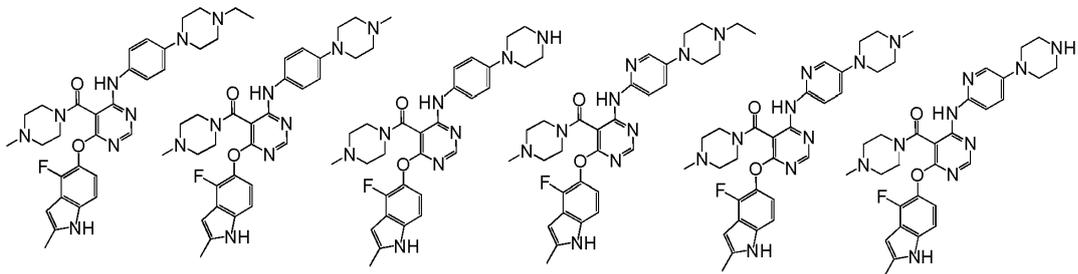
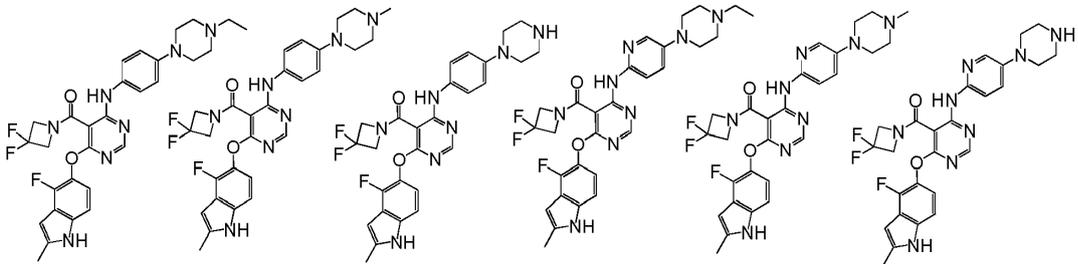
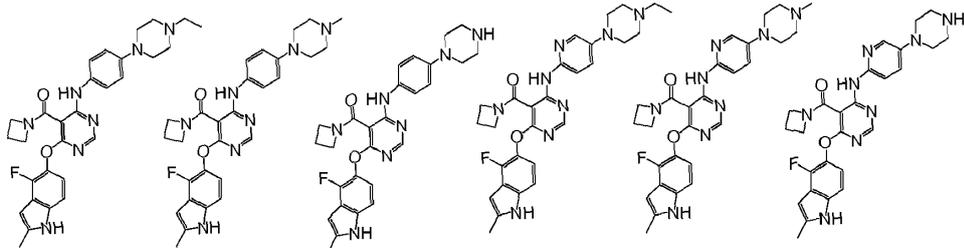
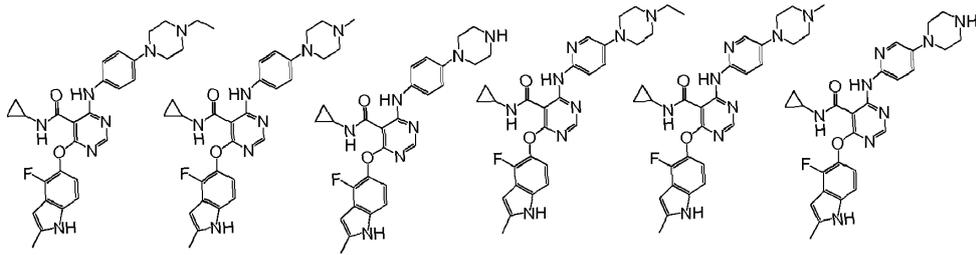


5

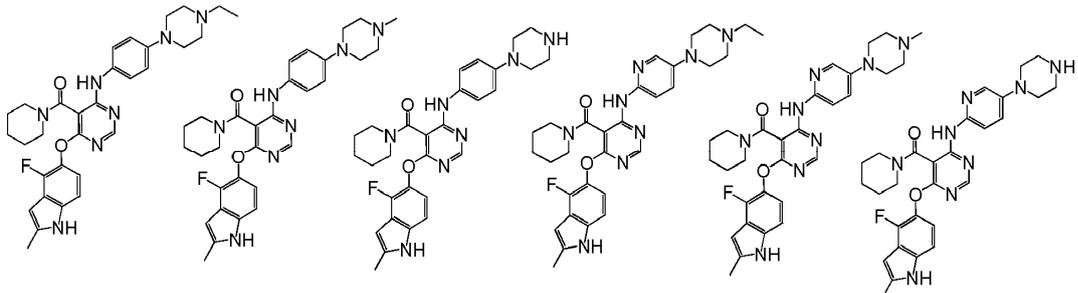


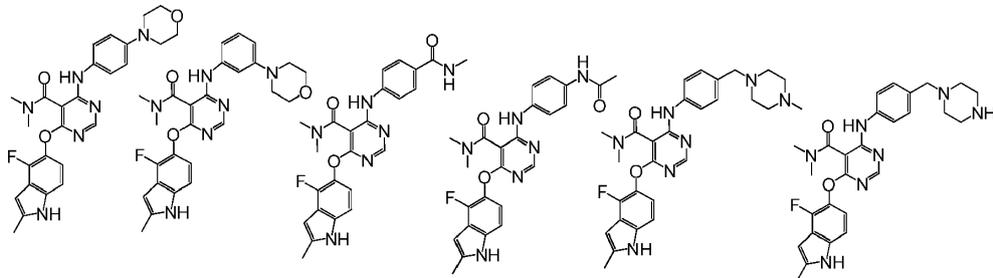
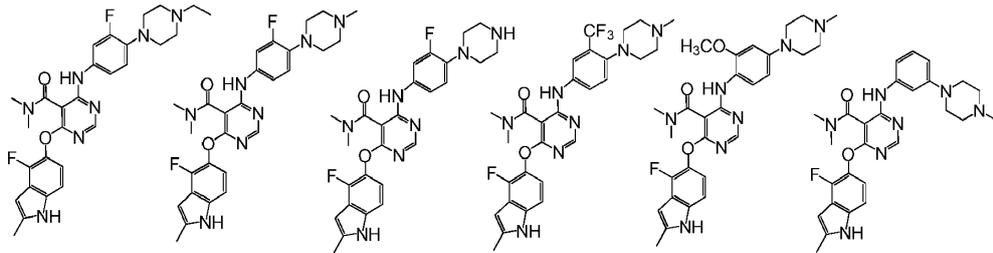
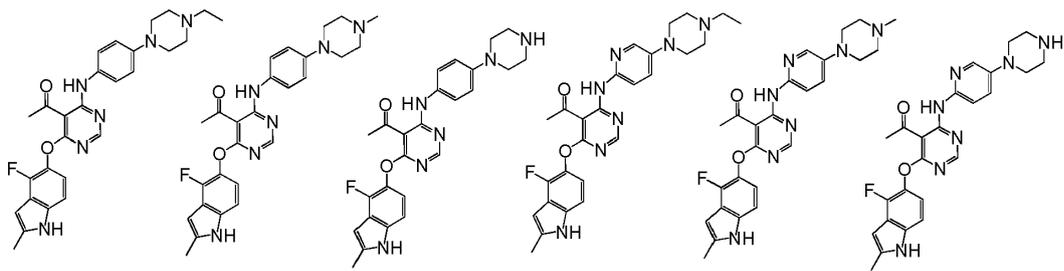
10



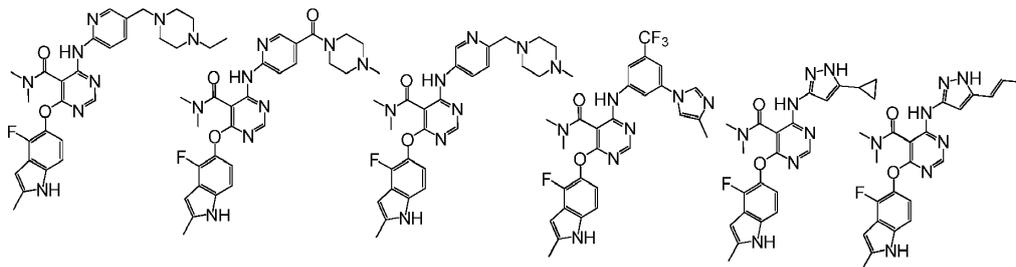
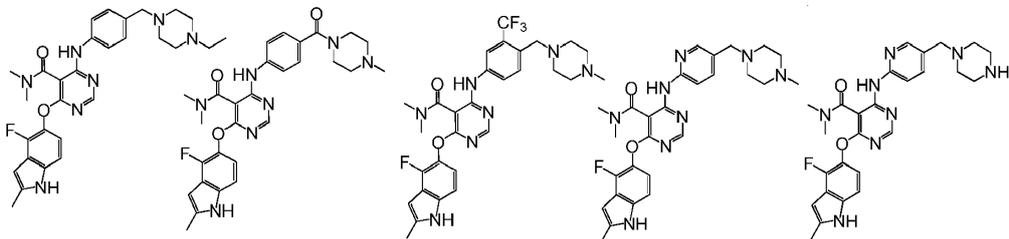


10

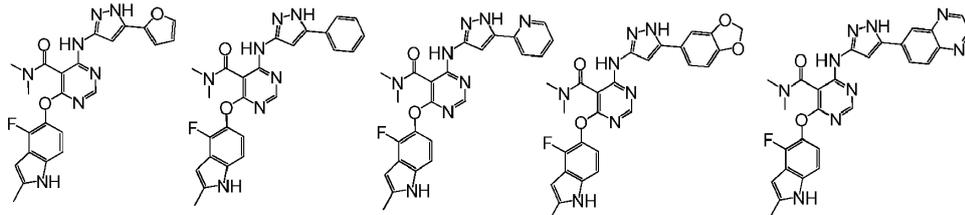


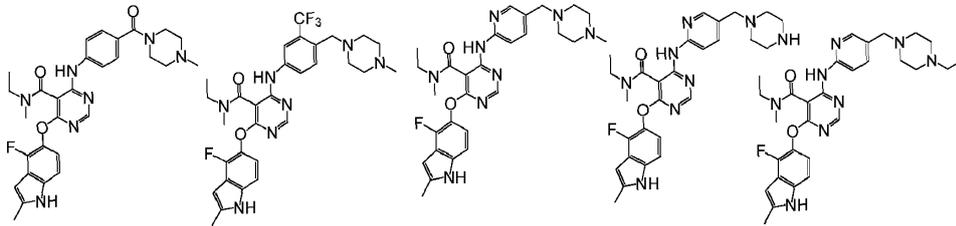
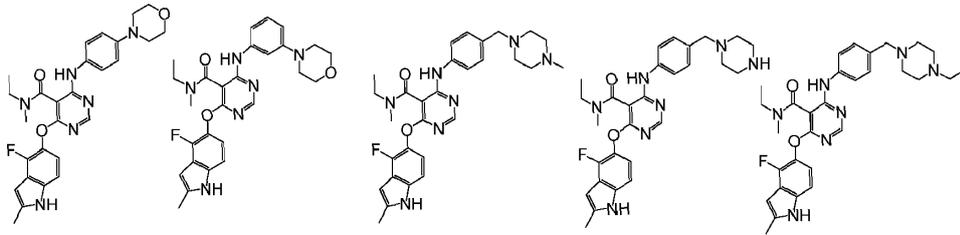
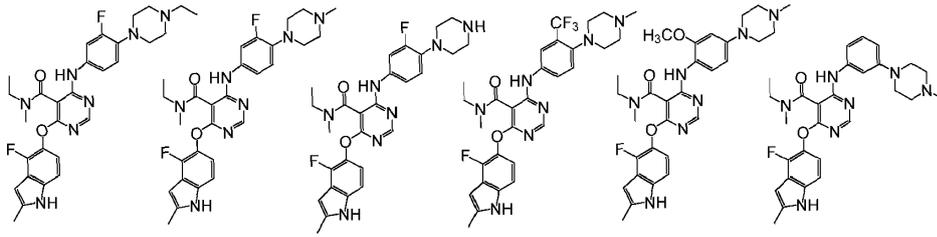


5

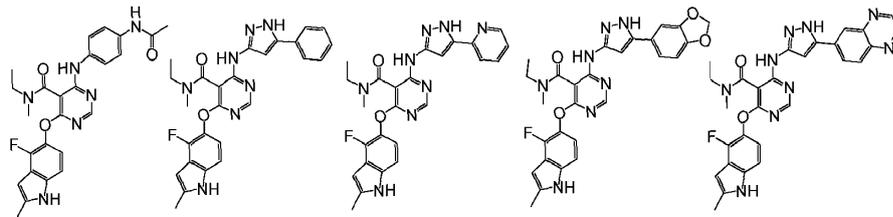
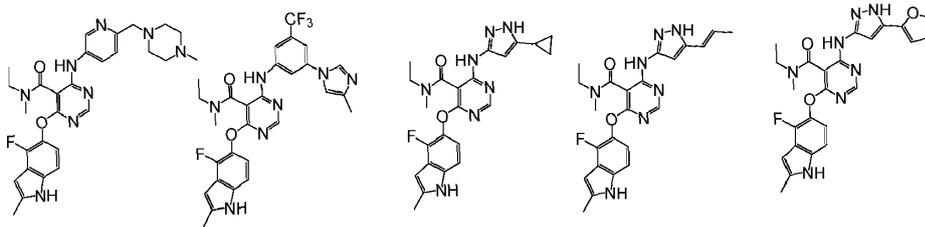


10

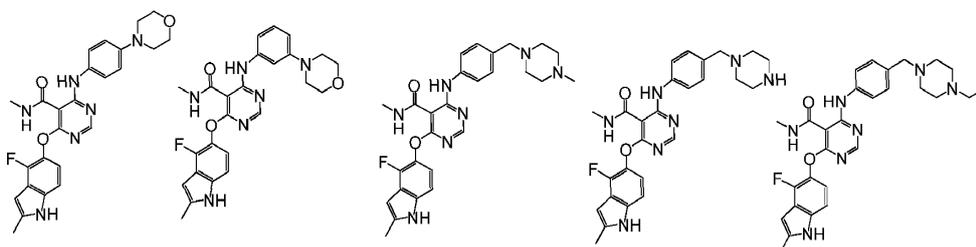
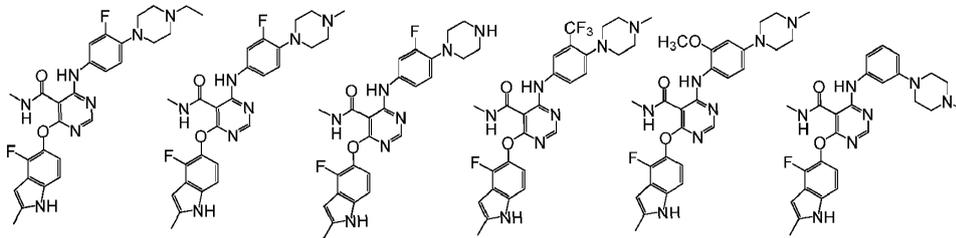


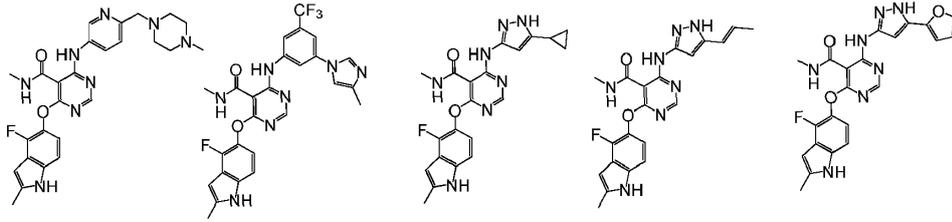
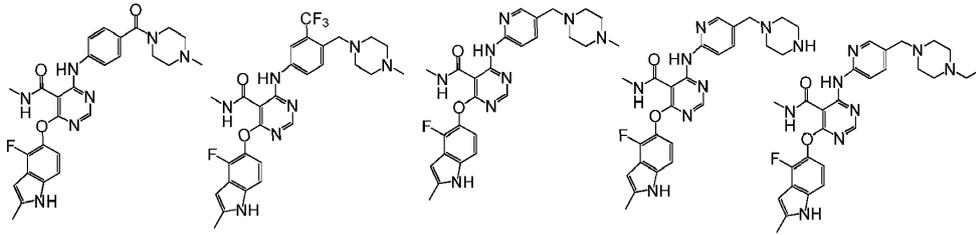


5

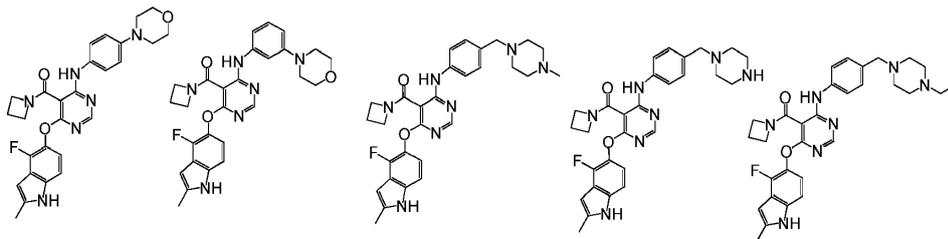
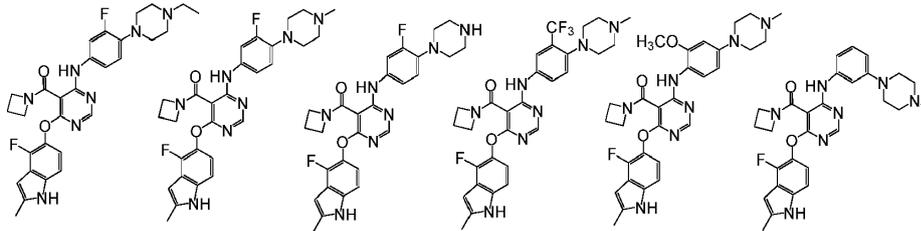
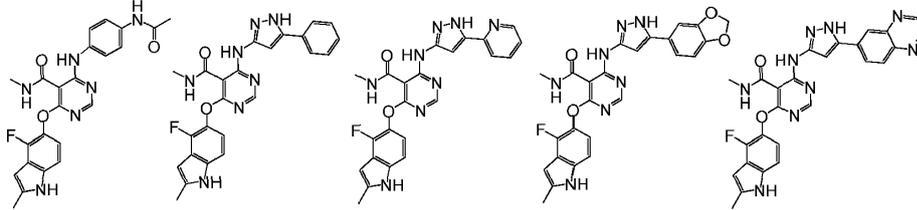


10

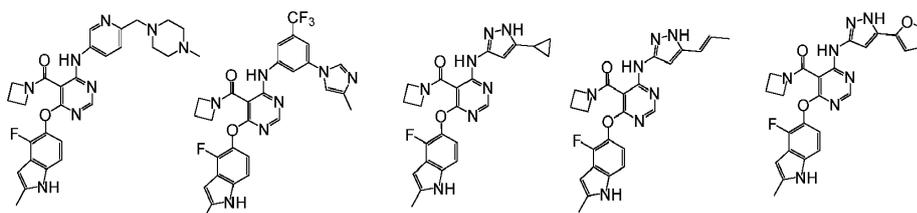
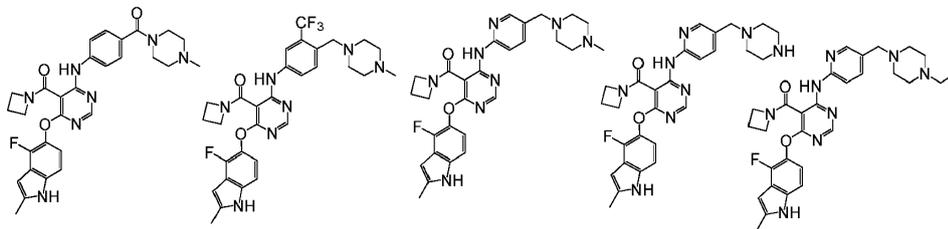




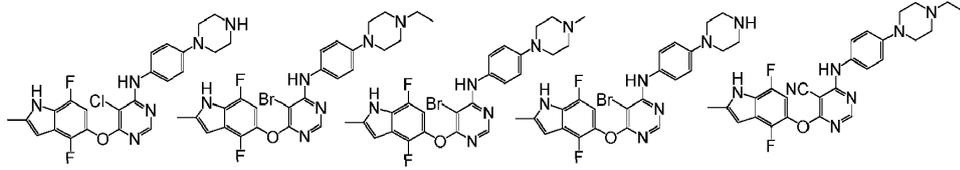
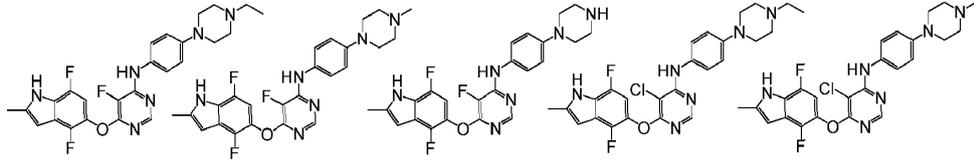
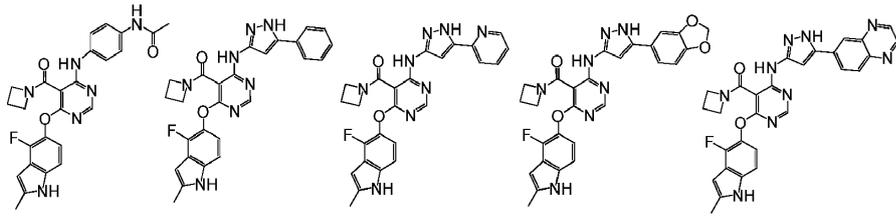
5



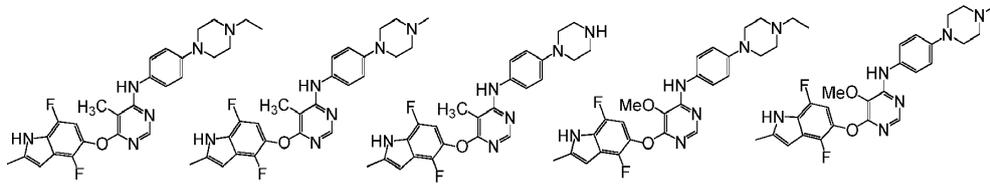
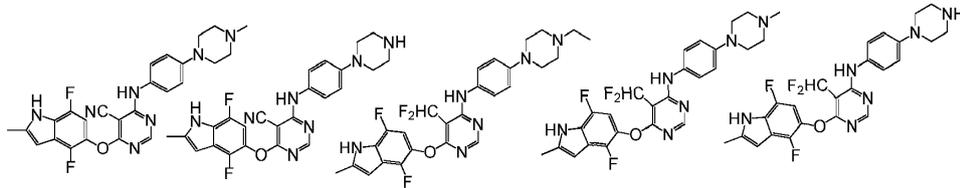
10



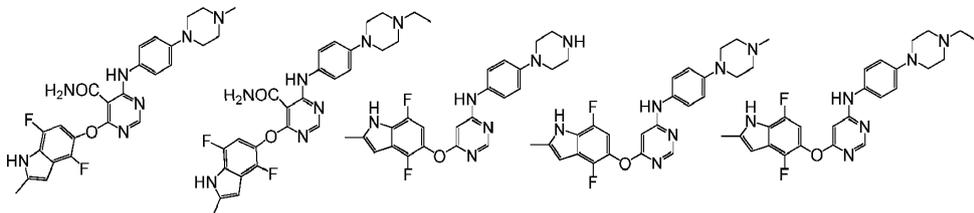
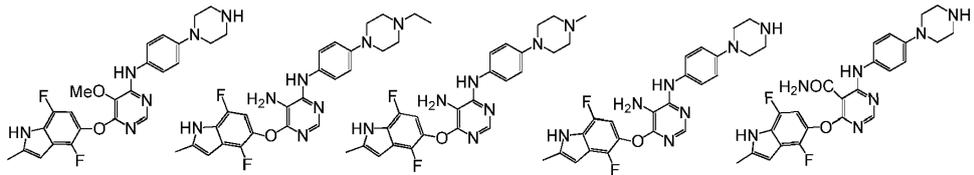
15

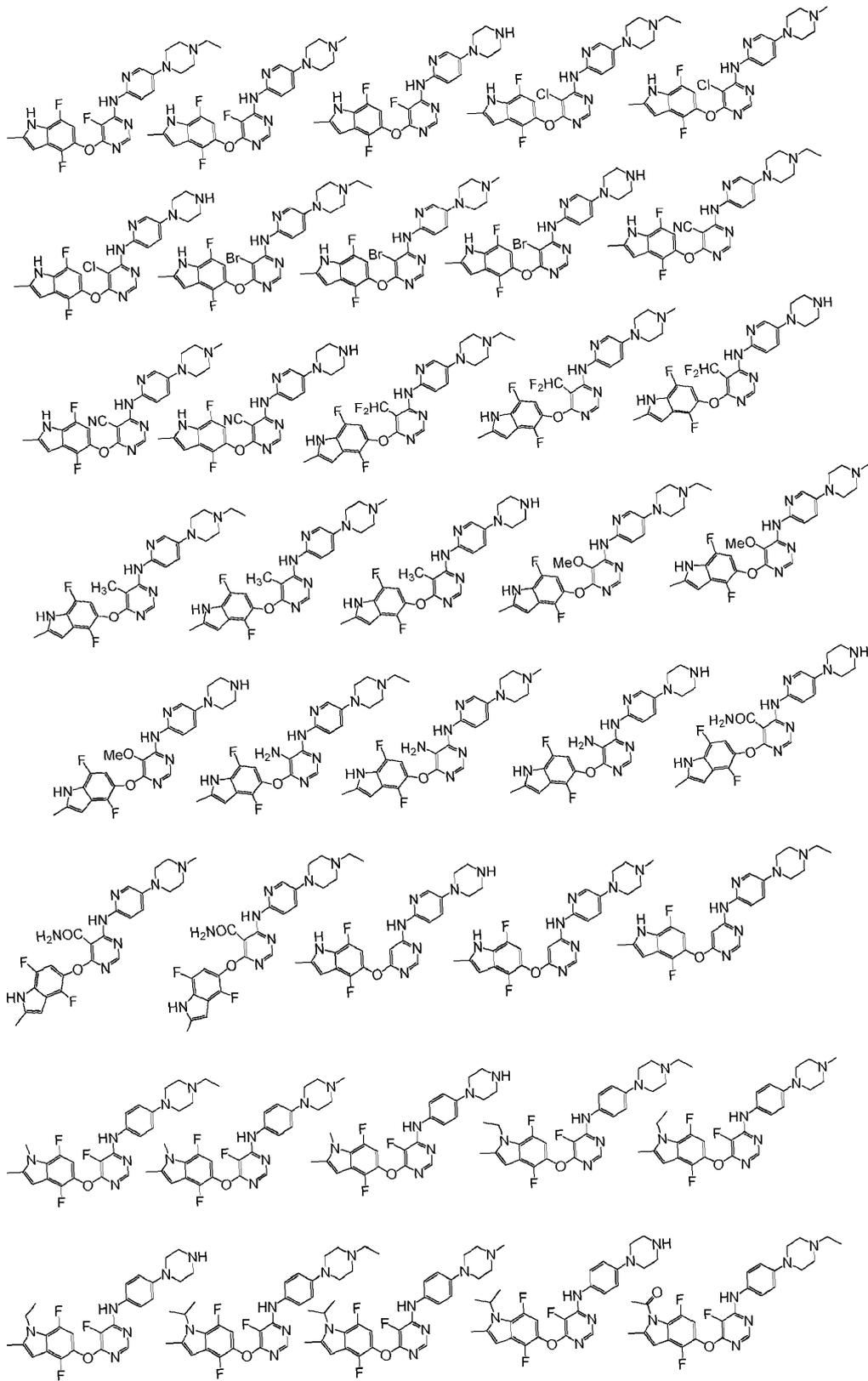


5

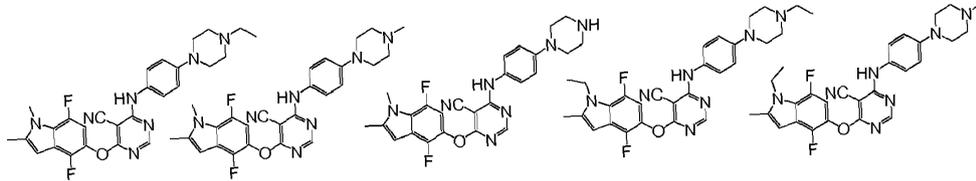
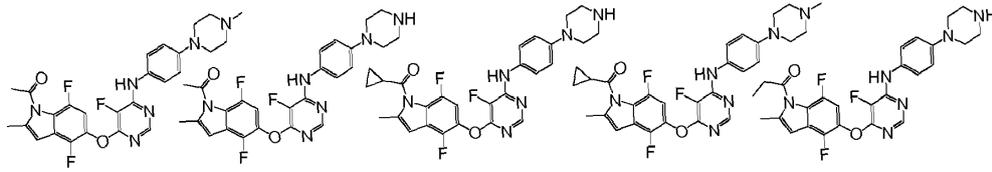


10

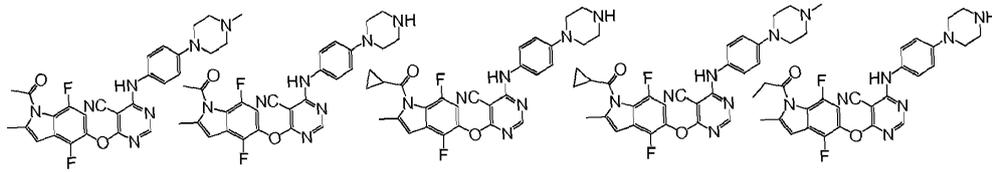
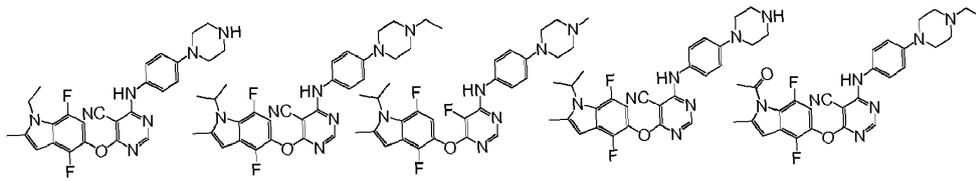




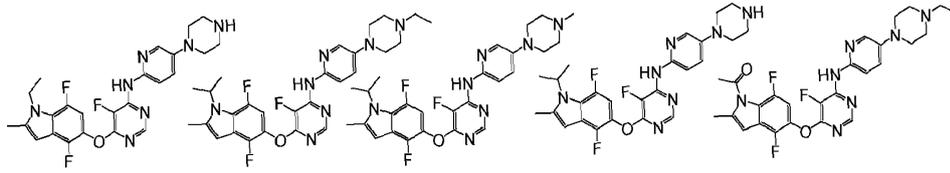
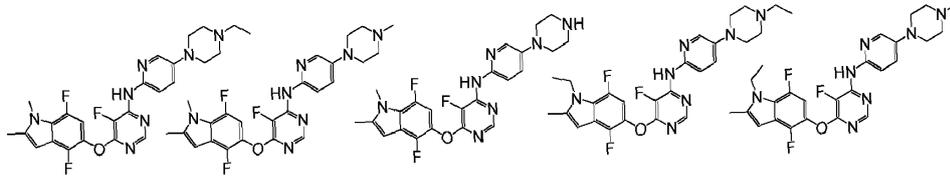
5



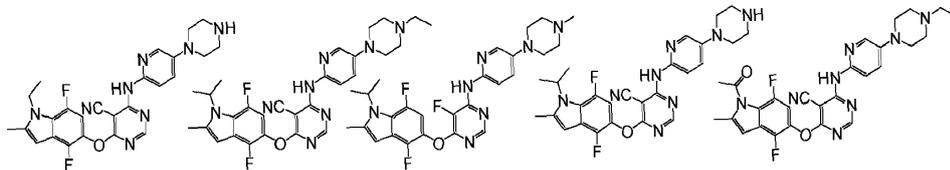
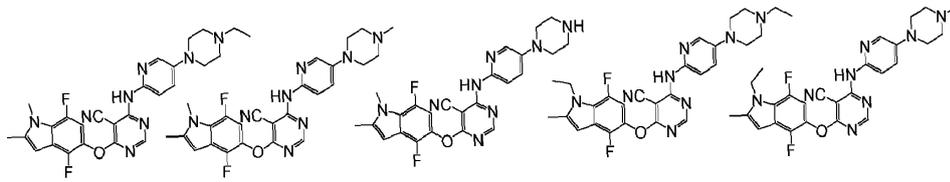
5

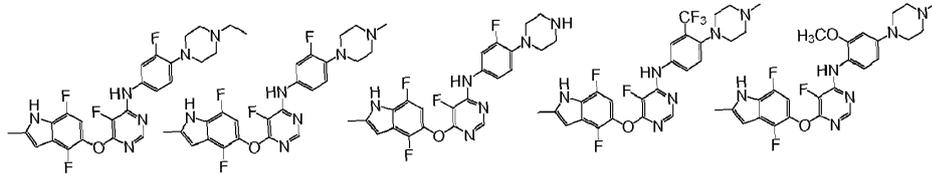
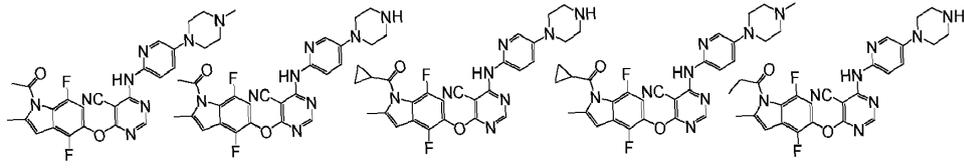


10

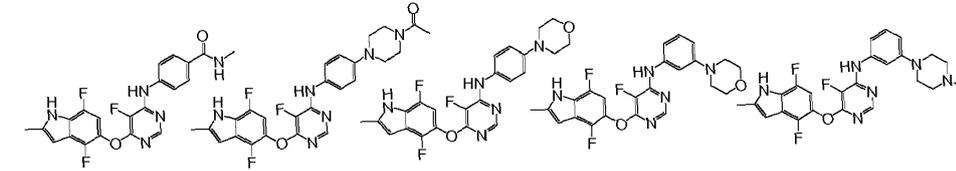
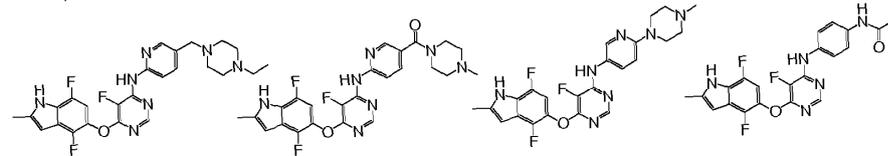
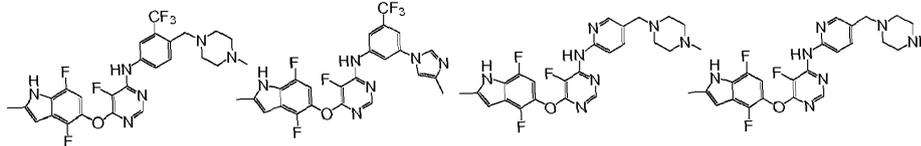
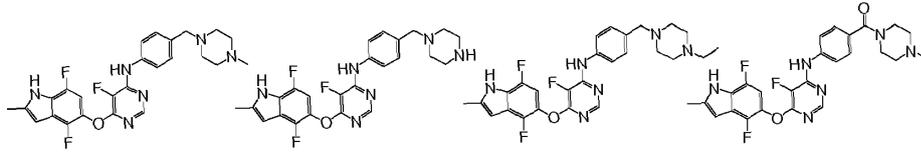


15

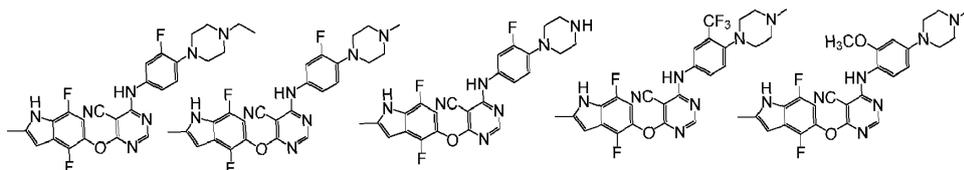
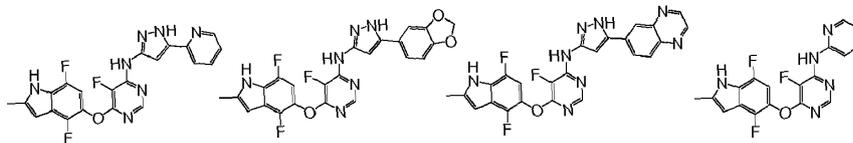
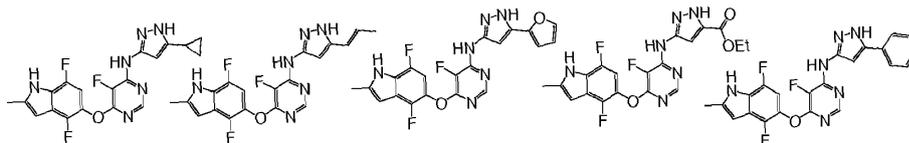




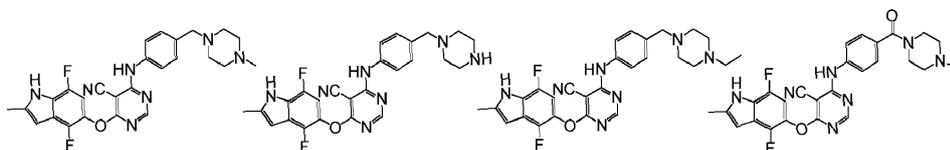
5

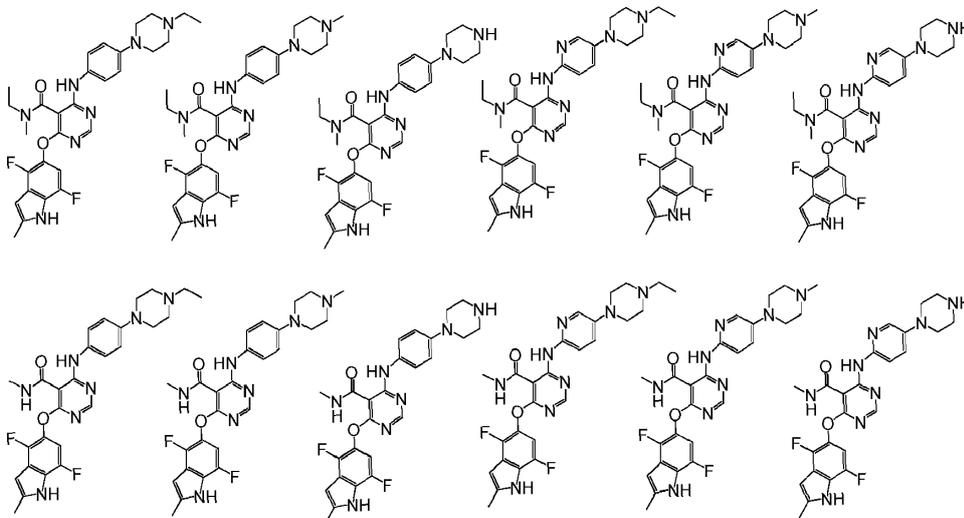
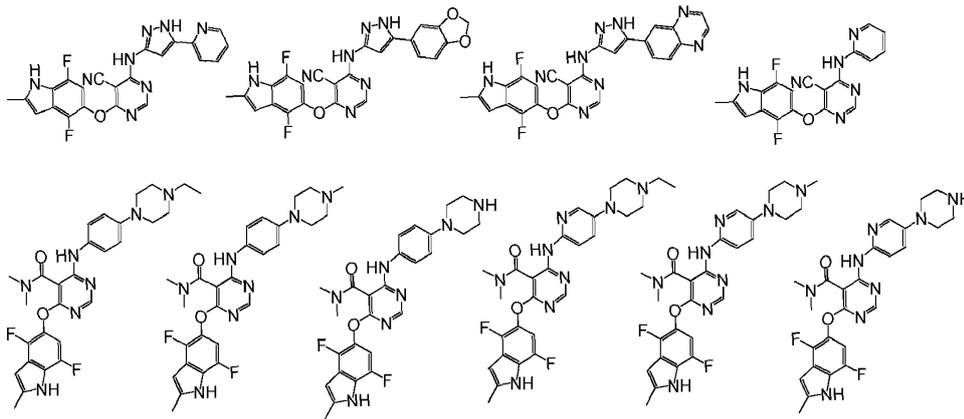
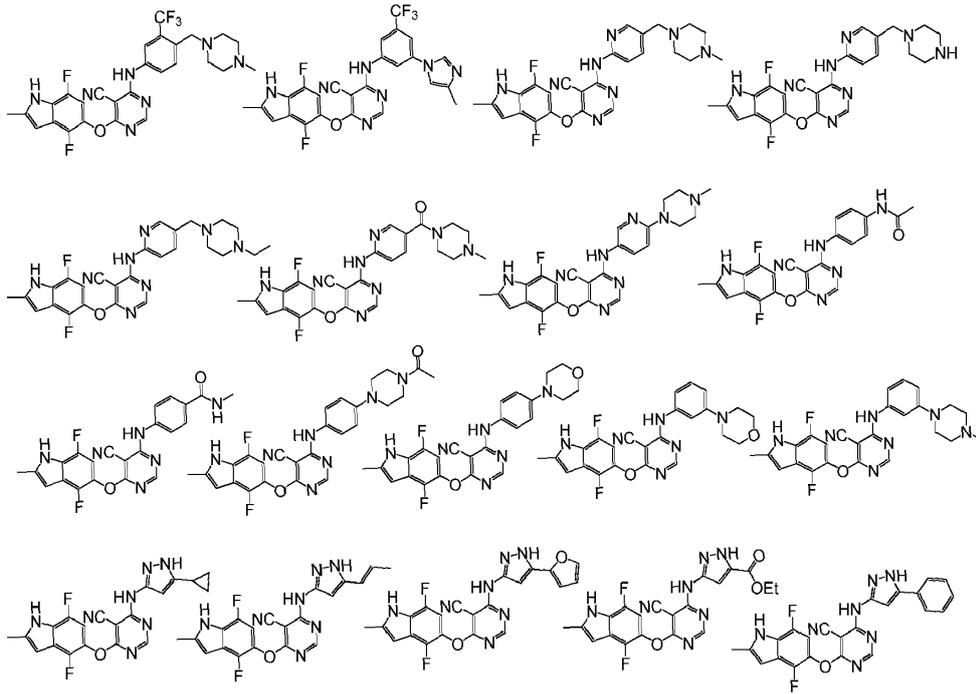


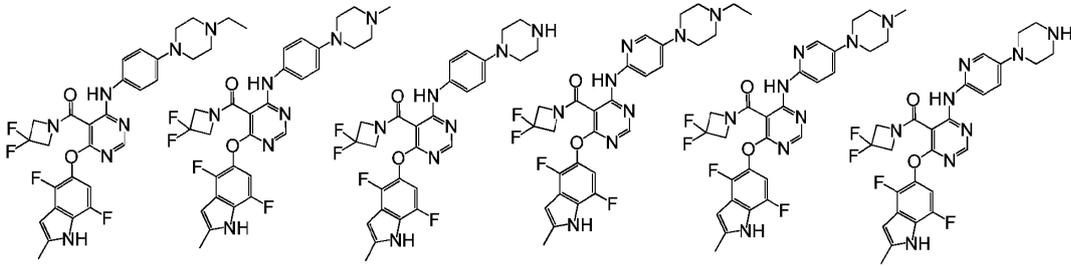
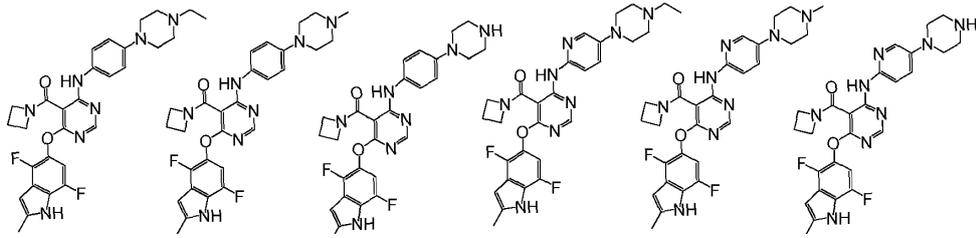
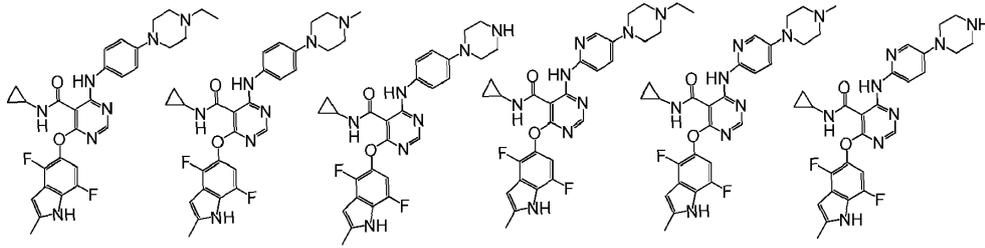
10



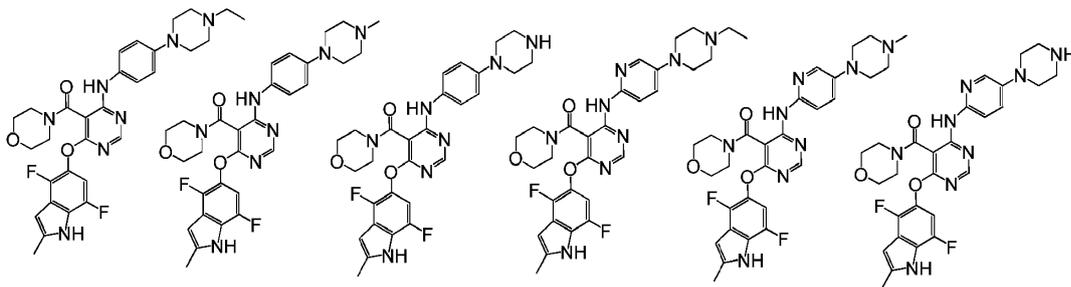
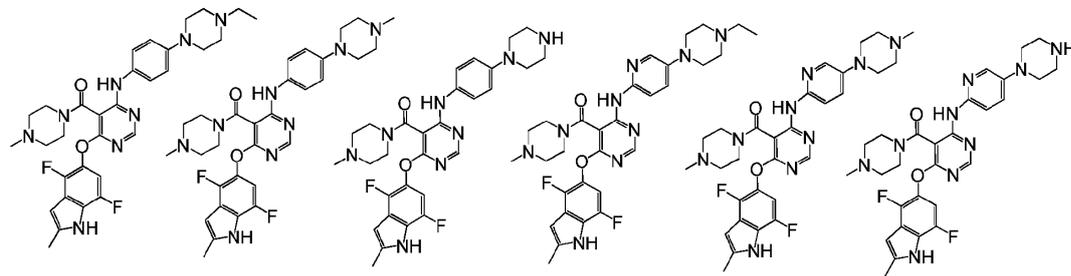
15



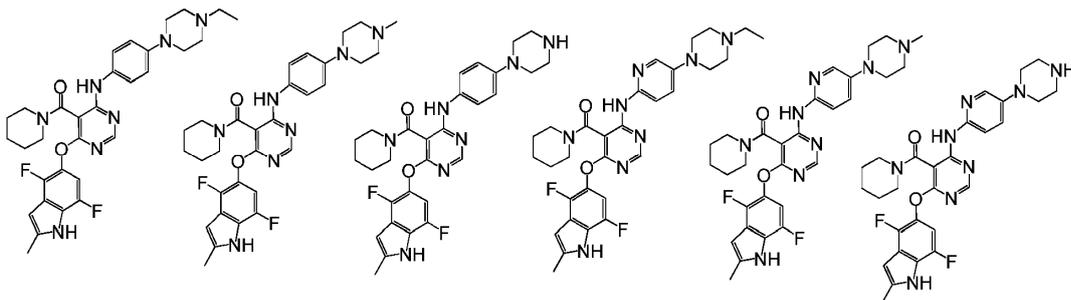


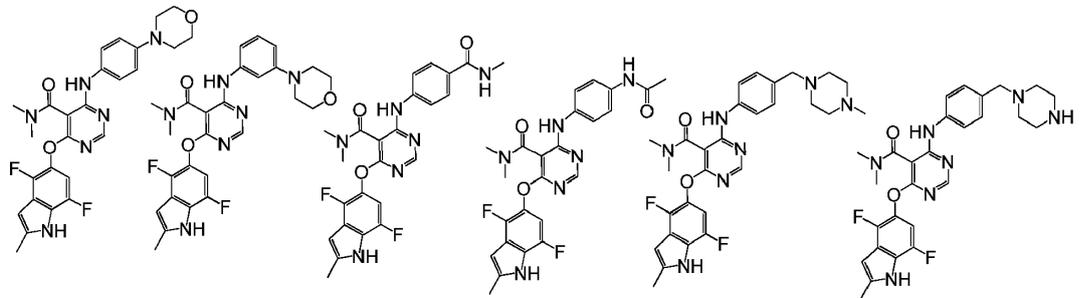
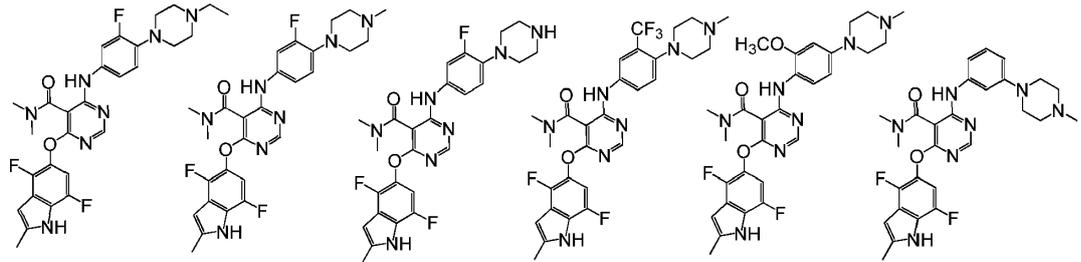
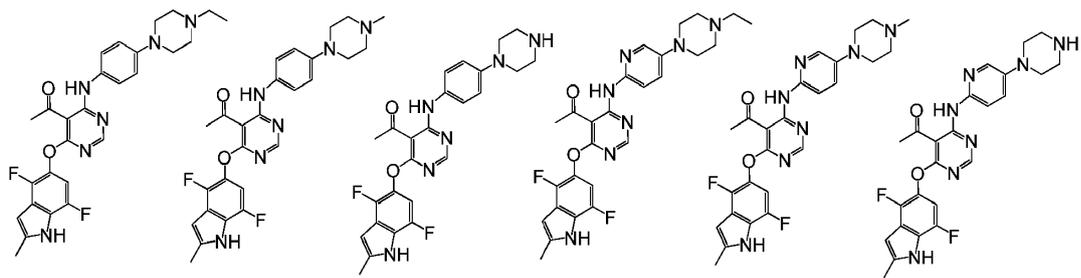


5

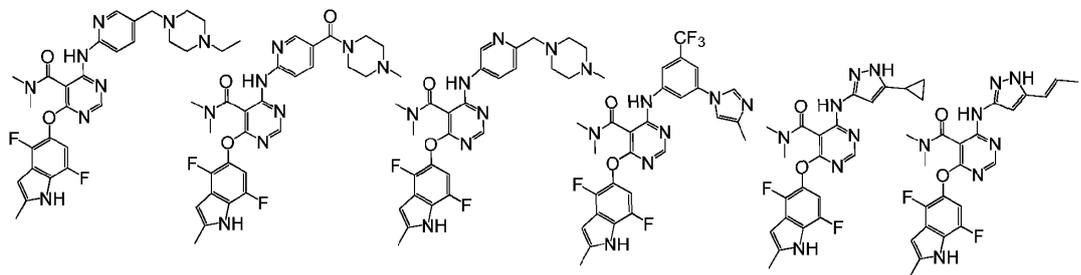
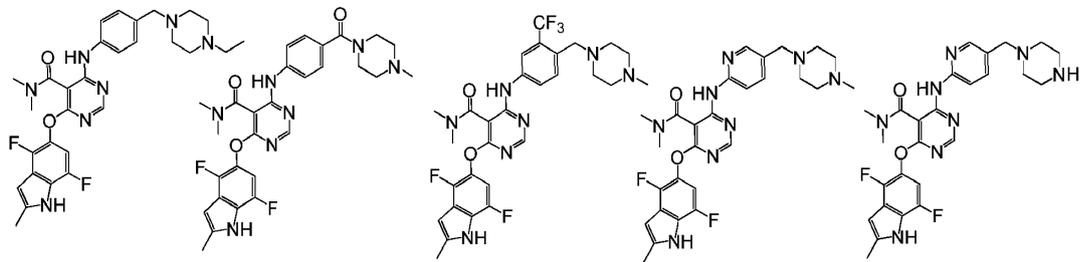


10

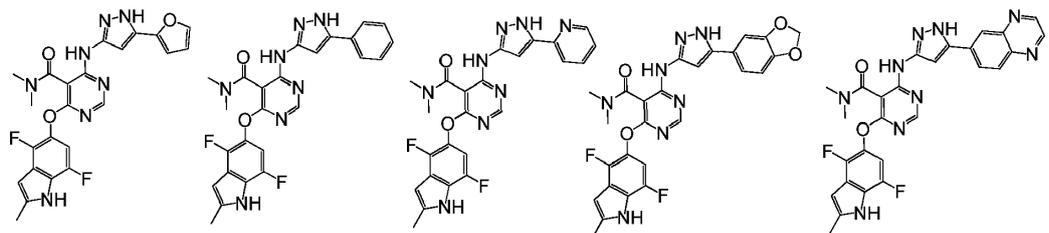


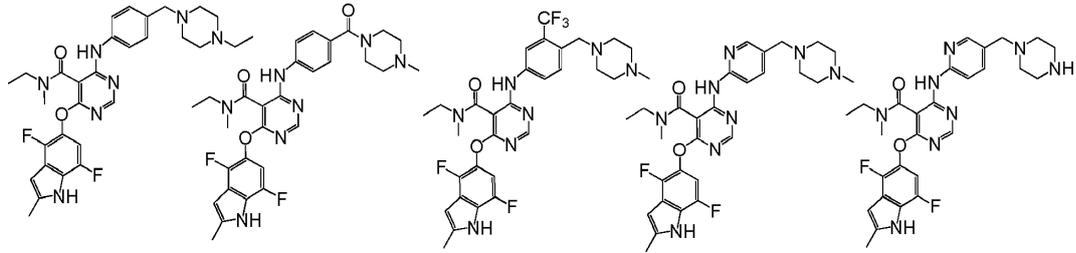
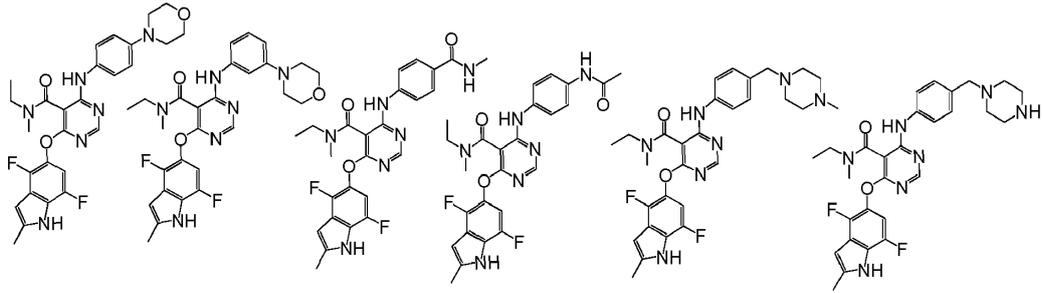
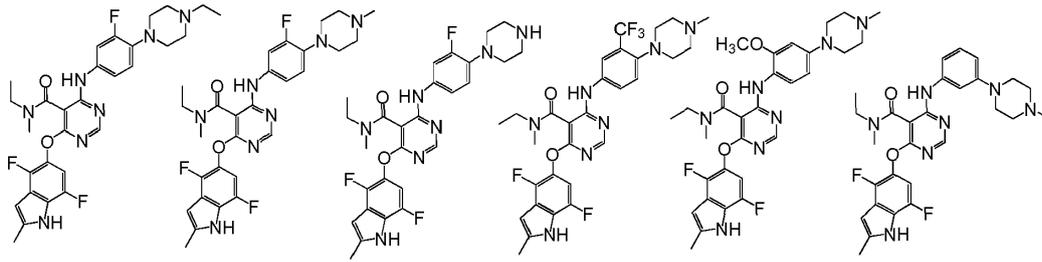


5

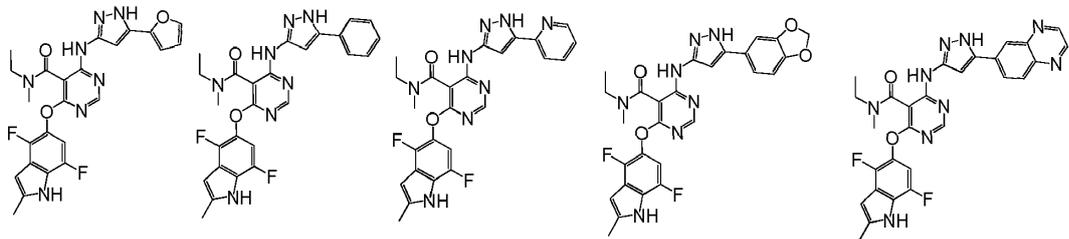
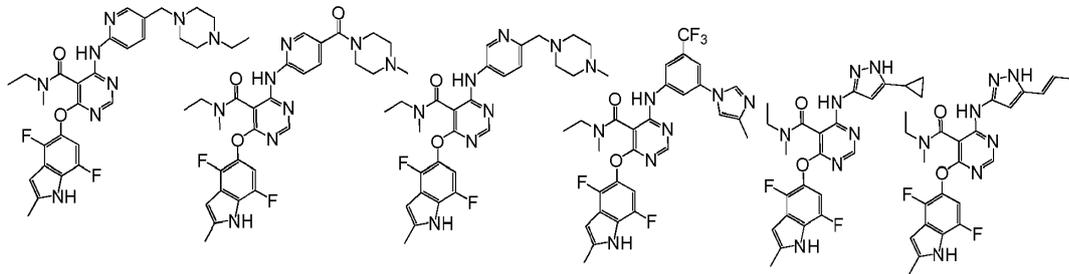


10

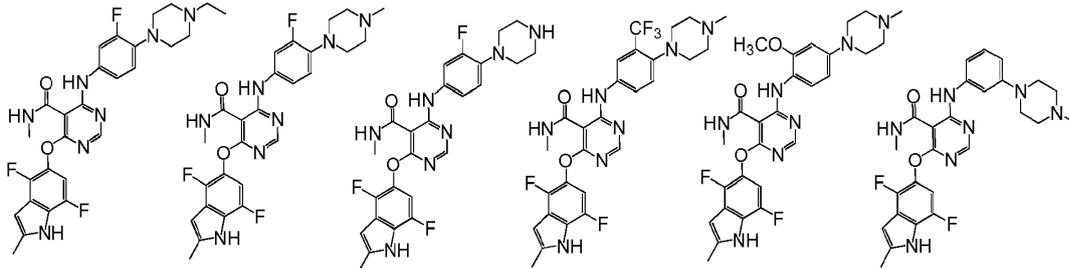


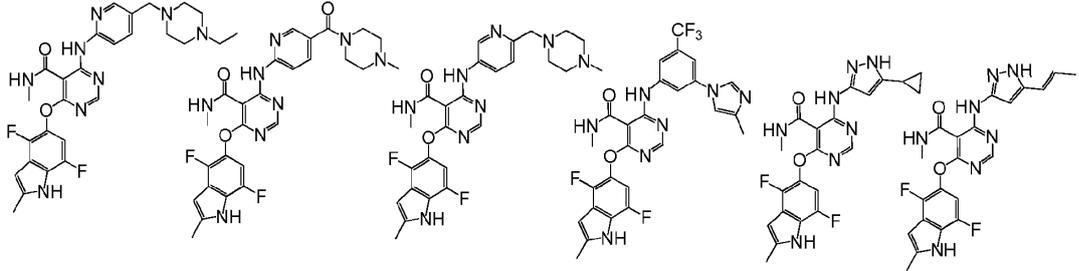
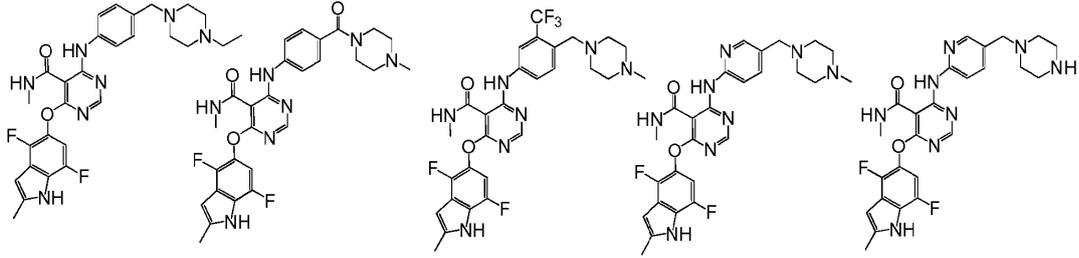
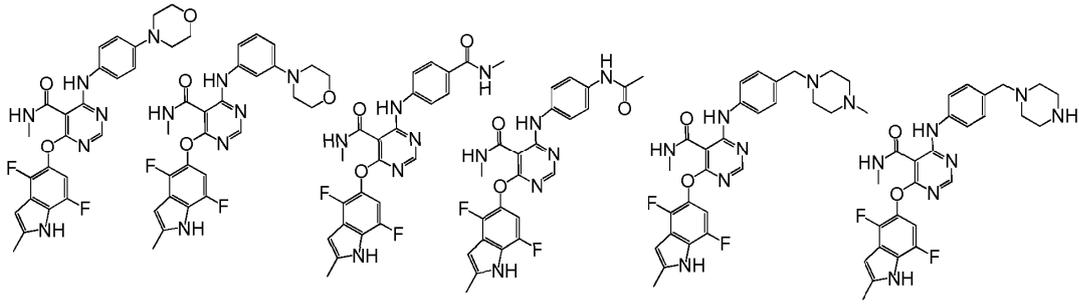


5

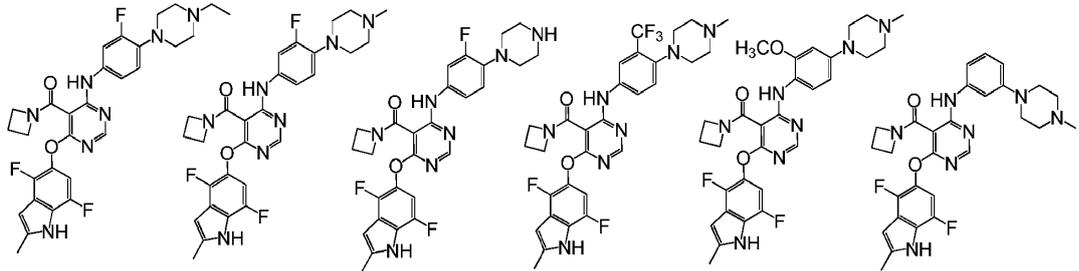
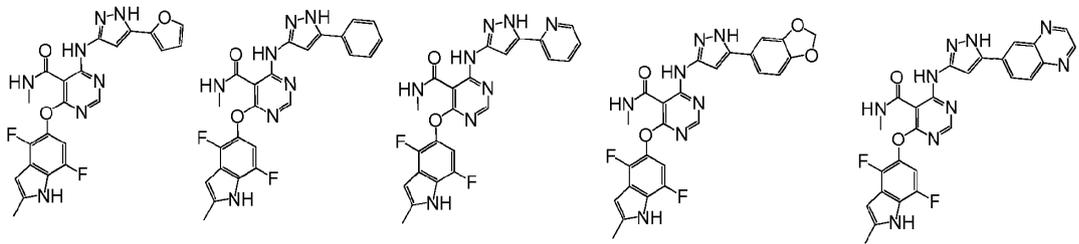


10

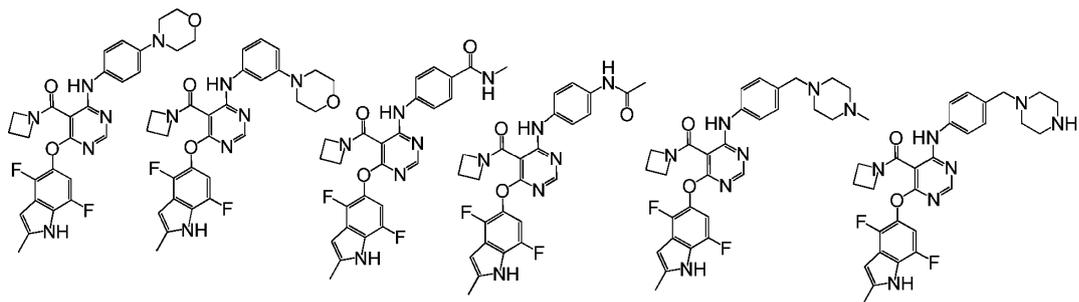


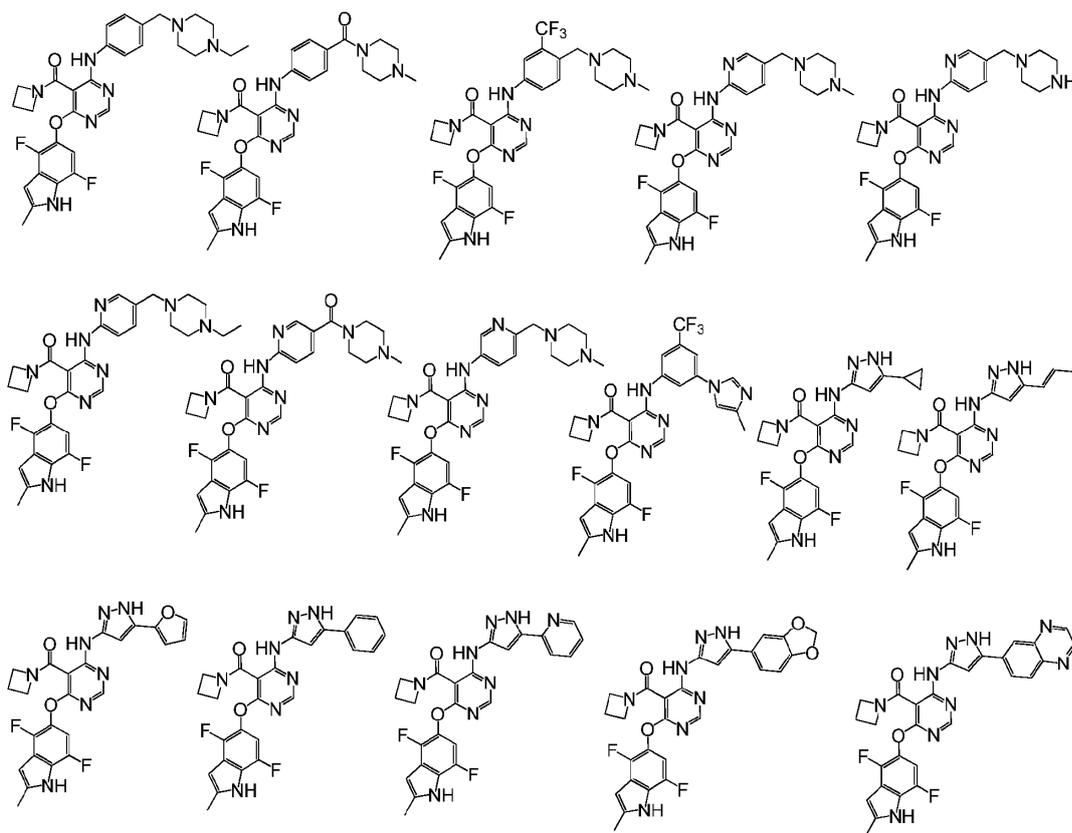


5



10





5

En otra realización, se da a conocer un método para preparar los compuestos inventivos. Los compuestos de la presente invención pueden en general prepararse usando 4,6-dicloro-pirimidina, con varios sustituyentes en la posición "5". El compuesto (I) puede contener diversos estereoisómeros, isómeros geométricos, isómeros tautoméricos y similares. Todos los isómeros posibles y sus mezclas se incluyen en la presente invención, y la relación de mezcla no se limita particularmente.

10

Los compuestos derivados de pirimidina de Fórmula (I) de la presente invención se pueden sintetizar a partir de precursores comercialmente disponibles usando protocolos establecidos. A modo de ejemplo, se puede usar una ruta sintética similar a aquella que se muestra en cualquiera de los siguientes Esquemas, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de química orgánica sintética, o sus variaciones como apreciará el experto en la materia. Cada variable en los siguientes esquemas se refiere a cualquier grupo acorde con la descripción de los compuestos provistos en este documento.

15

En los Esquemas que siguen, el término "reducción" se refiere al proceso para reducir una funcionalidad nitro a una funcionalidad amino, o el proceso de transformar una funcionalidad éster en un alcohol. La reducción de un grupo nitro se puede llevar a cabo en una diversidad de formas conocidas en la técnica de síntesis orgánica, incluidas, pero no limitadas a, hidrogenación catalítica, reducción con SnCl_2 y reducción con bicloruro de titanio. En los Esquemas que siguen, el término "hidrolizar" se refiere a la reacción de un sustrato o reaccionante con agua. Más concretamente, "hidrolizar" se refiere a la conversión de una funcionalidad éster o nitrito en un ácido carboxílico. Este proceso se puede catalizar por una diversidad de ácidos o bases conocidos por el experto en la técnica de síntesis orgánica.

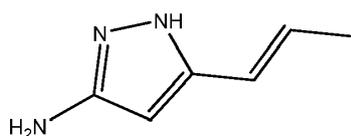
20

Los compuestos de Fórmula (I) se pueden preparar mediante el uso de reacciones y procedimientos químicos conocidos. Los siguientes métodos preparativos generales se presentan para auxiliar al experto en la técnica a sintetizar los inhibidores, presentándose ejemplos más detallados en la sección experimental que describe los ejemplos de trabajo.

25

Propenil-pirazol amina como se define en la fórmula (III) no está comercialmente disponible. Se puede preparar por varios métodos como se describió precedentemente (ver, p. ej., la solicitud de EE. UU. provisional número 61/555.738).

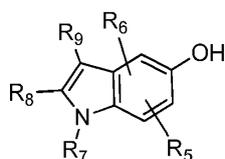
30



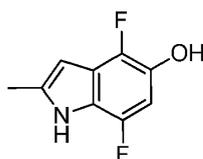
(II)

Los precursores de indol-5-ol sustituidos como se define en la fórmula (III) se pueden adquirir de proveedores, o sintetizarse a partir de precursores comercialmente disponibles usando protocolos establecidos (WO 2004/009542, P33-38; *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, Vol 49, No. 7, P2143-2146; Org. Lett. Vol 10, No 12, 2008, P 2369-2372; WO 00/47212, P245-250; WO 2009036055 A1, P57).

Especialmente, el precursor 47-difluoroindol-5-ol que se define en la fórmula (IIIa) no se describió antes y se puede preparar por distintos métodos como se describió anteriormente (WO2014145403 A1).

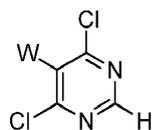


(III)

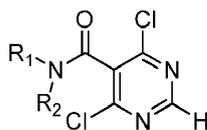


(IIIa)

Los precursores de 4,6-dicloro-pirimidinas sustituidos en 5 como se define en la fórmula (IV) se pueden adquirir de proveedores. Especialmente, el precursor como se define en la fórmula (IVa) se puede sintetizar a partir de precursores comercialmente disponibles usando protocolos establecidos (PCT Solicitud internacional, 2010141406, 09 dic 2010, Compuesto 310F).

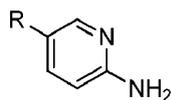


(IV)



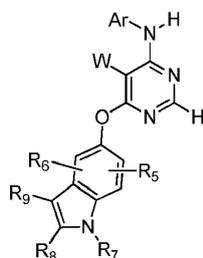
(IVa)

En general, los precursores de ArNH₂ se pueden adquirir de proveedores. Los precursores de ArNH₂ definidos en la fórmula (V) se pueden adquirir de proveedores, o se pueden sintetizar a partir de precursores comercialmente disponibles usando protocolos establecidos. (*J. Med. Chem.* 2010, 53, 7938-7957, específicamente, P7949).



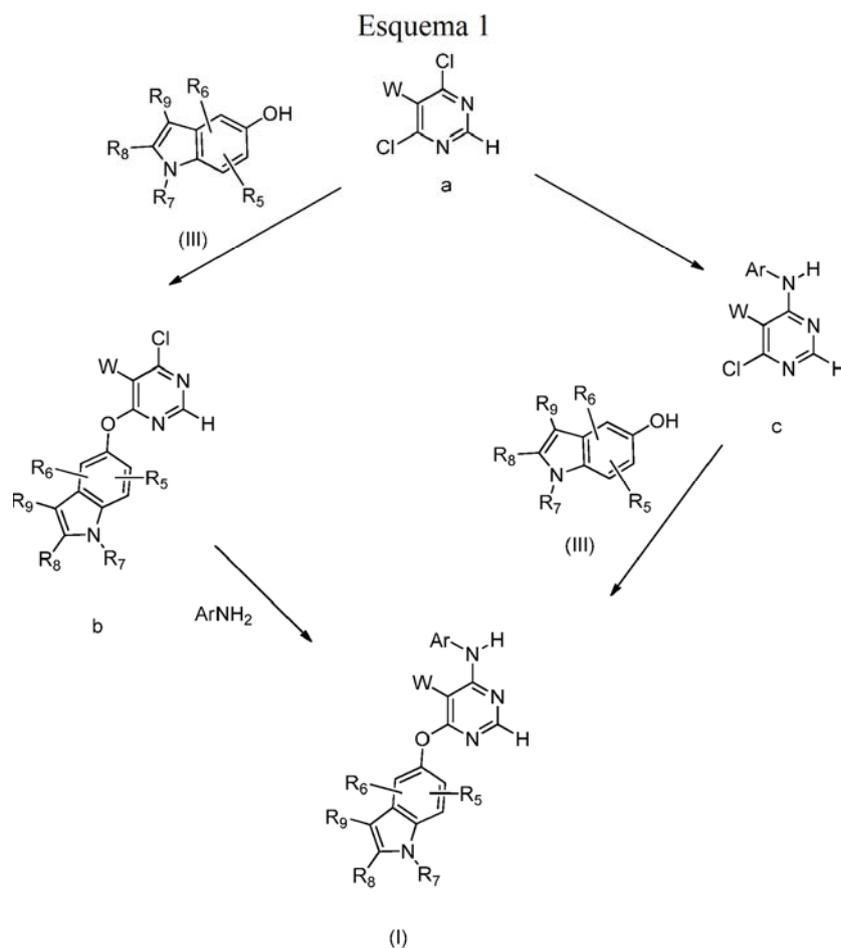
(V)

La preparación de los compuestos de fórmula (I) en la presente invención se puede llevar a cabo por los métodos enumerados en el esquema 1.

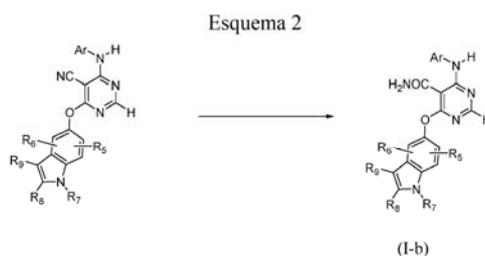


(I)

Como se muestra en el esquema 1, el derivado de pirimidina (I) se puede sintetizar por reacción de 4,6-dicloropirimidina sustituido en 5 con una secuencia de indol-5-ol sustituido para dar el intermedio de monocloropirimidina del compuesto b, que puede reaccionar con ArNH₂ para producir el compuesto final (I). La reacción puede ser gradual o en un solo recipiente. La secuencia alternativa también se puede utilizar para preparar derivados de pirimidina.



Como se muestra en el esquema 2, los compuestos finales definidos en (I-b), se pueden sintetizar a partir de los correspondientes precursores, en donde W es "CN".



- 5 La reacción preferiblemente se lleva a cabo en presencia de un disolvente inerte. No hay ninguna restricción particular sobre la naturaleza del disolvente que se ha de emplear, siempre que no tenga ningún efecto adverso sobre la reacción o sobre los reactivos implicados y que pueda disolver los reactivos, por lo menos en algún grado. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen: hidrocarburos alifáticos, tales como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos, como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados, especialmente hidrocarburos aromáticos y alifáticos, como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobencenos; ésteres, como formiato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres, tales como éter dietílico, éter diisopropílico, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano y dietilenglicol dimetil éter; cetonas, como acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, isoforona y ciclohexanona; compuestos nitro, que pueden ser nitroalcanos o nitroaranos, como nitroetano y nitrobenzeno; nitrilos, como acetonitrilo e isobutironitrilo; amidas, que pueden ser amidas de ácido graso, como formamida, dimetilformamida, dimetilacetamida y triamida hexametilfosfórica; y sulfóxidos, como dimetil sulfóxido y sulfolano.
- 10
- 15

La reacción puede tener lugar en una amplia gama de temperaturas, y la temperatura de reacción precisa no es crítica para la invención. En general, nos resulta conveniente llevar a cabo la reacción a una temperatura entre -50°C y 100°C.

La presente invención da a conocer composiciones de materia que son formulaciones de uno o más fármacos activos y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En este sentido, la invención da a conocer una composición para administración a un sujeto mamífero, que puede incluir un compuesto de fórmula I, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 5 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen aquellas derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales de ácido adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanato. Otros ácidos, como oxálico, si bien no son por sí mismos farmacéuticamente aceptables, se pueden emplear en la preparación de sales útiles como intermedios para obtener los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.
- 10
- 15 Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino (p. ej., sodio y potasio), metal alcalino térreo (p. ej., magnesio), amonio y N+(alquilo C1-4)4. La presente invención también contempla la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno básico de los compuestos descritos en la presente invención. Se pueden obtener productos dispersables o solubles en aceite o agua mediante dicha cuaternización.

20 Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, por inhalación, pulverización, en forma tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" tal como se emplea en la presente memoria incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intra-sinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

25 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar oralmente en una forma de dosificación oralmente aceptable que incluye, aunque sin limitarse a ello, cápsulas, comprimidos, pastillas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, gomas de mascar, suspensiones o disoluciones acuosas.

30 Las composiciones orales pueden contener ingredientes adicionales tales como un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido alginico, almidón de maíz y similar; un lubricante tal como estearato de magnesio; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; y un edulcorante tal como sacarosa o sacarina o saporífero tal como menta, metil salicilato o saporífero de naranja. Cuando la forma unitaria de dosificación es una cápsula, puede además contener un vehículo líquido tal como un aceite graso. Otras formas unitarias de dosificación pueden contener varios otros materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, como por ejemplo, un recubrimiento. Por lo tanto, los comprimidos o píldoras pueden estar recubiertos con azúcar, laca u otros agentes de recubrimiento entéricos. Un jarabe puede contener, además de los ingredientes activos, sacarosa como edulcorante y determinados conservantes, tintes y colorantes, y saporíferos. Los materiales empleados para preparar estas diversas composiciones deben ser puros desde el punto de vista farmacéutico o veterinario y no tóxicos en las cantidades utilizadas.

35

40 Para los fines de administración terapéutica parenteral, el ingrediente activo se puede incorporar en una disolución o suspensión. Las disoluciones o suspensiones pueden además incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, disolución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminatetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parenteral puede estar contenida dentro de ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis de vidrio o plástico.

45

50 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen disoluciones estériles, dispersiones, emulsiones y polvos estériles. La forma final debe ser estable bajo condiciones de fabricación y almacenamiento. Asimismo, la forma farmacéutica final debe estar protegida contra contaminación y debe, por lo tanto, ser capaz de inhibir el desarrollo de microorganismos tales como bacterias u hongos. Se puede administrar una única dosis intravenosa o intraperitoneal. Alternativamente, se puede utilizar una infusión lenta a largo plazo o múltiples infusiones diarias a corto plazo, que típicamente duran entre 1 y 8 días. La administración en días alternos o la administración una vez cada varios días también es posible.

55 Se pueden preparar disoluciones inyectables estériles incorporando un compuesto en la cantidad requerida en uno o más disolventes apropiados a los cuales los demás ingredientes mencionados anteriormente o conocidos por el experto en la técnica se pueden añadir según sea necesario. Las disoluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios otros ingredientes según sea necesario. Luego pueden seguir procedimientos para esterilizar, como filtración. Típicamente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto en un vehículo estéril que también contiene el

medio de dispersión y los otros ingredientes requeridos como se indicó anteriormente. En el caso de un polvo estéril, los métodos preferidos incluyen liofilización o secado al vacío al que se le añaden los ingredientes requeridos.

5 Los vehículos farmacéuticos adecuados incluyen agua estéril, disolución salina, dextrosa, dextrosa en agua o disolución salina; productos de condensación de aceite de ricino y óxido de etileno que combinan aproximadamente 30 a aproximadamente 35 moles de óxido de etileno por mol de aceite de ricino; ácido líquido; alcanoles inferiores; aceites tales como aceite de maíz; aceite de cacahuate, aceite de sésamo y similares, con emulsionantes tales como mono- o di-glicérido de un ácido graso, o un fosfátido, p. ej., lecitina y similares; glicoles; polialquilenglicoles; medio acuoso en presencia de un agente de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica; alginato sódico; 10 poli(vinilpirrolidona); y similares, solos o con agentes de dispensación adecuados tales como lecitina; polioxietileneestearato; y similares. El vehículo puede además contener adyuvantes tales como conservantes, estabilizantes, humectantes, emulsionantes y similares junto con el potenciador de penetración. En todos los casos, la forma final, como se observó, debe ser estéril y también debe poder pasar fácilmente por un dispositivo de inyección tal como una aguja hueca. La viscosidad correcta se puede lograr y mantener con la elección correcta de los disolventes o excipientes. Asimismo, el uso de recubrimientos moleculares o particulados tales como lecitina, la 15 selección correcta del tamaño de partícula en dispersiones, o el uso de materiales con propiedades tensioactivas también es posible.

De acuerdo con la invención, se dan a conocer composiciones que contienen derivados de pirimidina y métodos útiles para la administración *in vivo* de derivados de pirimidina en la forma de nanopartículas, que son adecuadas para cualquiera de las rutas de administración anteriormente mencionadas.

20 Las patentes de Estados Unidos núm. 5.916.596, 6.506.405 y 6.537.579 describen la preparación de nanopartículas de los polímeros biocompatibles, como albúmina. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, se dan a conocer métodos para la formación de nanopartículas de la presente invención mediante una técnica de evaporación de disolvente de una emulsión aceite en agua preparada bajo condiciones de fuerzas de alta cizalladura (p. ej., sonicación, homogeneización a alta presión o similares).

25 Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar en la forma de supositorios para administración rectal. Estos se pueden preparar mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y por lo tanto se funde en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

30 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención también se pueden administrar en forma tópica, especialmente cuando la diana de tratamiento incluye áreas u órganos accesibles fácilmente por aplicación tópica, incluidas enfermedades del ojo, la piel o la parte inferior del tubo digestivo. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos.

35 La aplicación tópica para la parte inferior del tubo digestivo se puede efectuar en una formulación de supositorio rectal (ver arriba) o en una formulación de enema adecuada. Los parches transdérmicos tópicos también se pueden utilizar.

40 Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en un ungüento adecuado que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para administración tópica de los compuestos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en una loción o crema adecuada que contenga los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, entre otros, aceite mineral, sorbitán monoestearato, polisorbato 60, cera de cetil ésteres, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

45 Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular como suspensiones micronizadas en disolución salina estéril, isotónica con pH ajustado o, preferiblemente, como disoluciones en disolución salina estéril, isotónica con, pH ajustado, o bien con o sin conservante, tal como cloruro de bencilalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en un ungüento tal como vaselina.

50 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden además administrar con aerosol nasal o por inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas muy conocidas en el campo de formulación farmacéutica y se pueden preparar como disoluciones en disolución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarburos y/u otros agentes dispersantes o solubilizantes convencionales.

55 Lo más preferiblemente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se formulan para administración oral.

De acuerdo con la invención, los compuestos de la invención se pueden utilizar para tratar enfermedades asociadas con proliferación o hiperproliferación celular, como cáncer que incluye, entre otros, tumores de la cavidad nasal, los senos paranasales, nasofaringe, cavidad oral, orofaringe, laringe, hipofaringe, glándulas salivales y paragangliomas. Los compuestos de la invención se pueden utilizar también para tratar cáncer de hígado y de las vías biliares (particularmente carcinoma hepatocelular), cáncer intestinal, particularmente cáncer colorrectal, cáncer de ovario, 5 cáncer de pulmón de células pequeñas y de células no pequeñas, cáncer de mama, sarcomas (incluidos fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, rhabdomyosarcoma embrionario, leiomyosarcoma, neuro-fibrosarcoma, osteosarcoma, sarcoma sinovial, liposarcoma y sarcoma de partes blandas alveolar), neoplasias de los sistemas nerviosos centrales (particularmente cáncer de cerebro) y linfomas (incluido linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmacitoide, linfoma folicular, linfoma de tejidos linfoides asociados con mucosas, linfoma de células del manto, linfoma de células grandes de linaje B, linfoma de Burkitt y linfoma de células grandes anaplásicas T).

Los compuestos y métodos de la presente descripción, o bien cuando se administran solos o combinados con otros agentes (p. ej., agentes quimioterapéuticos o agentes terapéuticos de proteínas descritos a continuación) son también útiles para tratar una diversidad de trastornos, incluidos, aunque sin limitarse a ello, por ejemplo: accidente cerebrovascular, enfermedad cardiovascular, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiomiopatía, miocarditis, enfermedad cardíaca isquémica, arteriopatía coronaria, choque cardiogénico, choque vascular, hipertensión pulmonar, edema pulmonar (incluidos edema pulmonar cardiogénico), efusiones pleurales, artritis reumatoide, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa y retinopatías, incluidas retinopatía diabética y retinopatía de prematuridad, enfermedades inflamatorias,estenosis, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda o del adulto (ARDS, por sus siglas en inglés), lupus, fuga vascular, protección contra lesión isquémica o de reperfusión, como 20 lesión isquémica o reperfusión incurrida durante la inducción para tolerancia al trasplante, trasplante de órganos; lesión isquémica o reperfusión que sigue a angioplastia; artritis (como artritis reumatoidea, artritis psoriásica o artrosis); esclerosis múltiple; enfermedad intestinal inflamatoria, incluida colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn; lupus (lupus eritematoso sistémico); enfermedades de injerto frente a hospedante; enfermedades de hipersensibilidad mediadas por células T, incluida hipersensibilidad de contacto, hipersensibilidad de tipo demorado y enteropatía sensible al gluten (celiaquía); diabetes de tipo 1; psoriasis; dermatitis de contacto (incluida aquella debida a hiedra venenosa); tiroiditis de Hashimoto; síndrome de Sjögren; hipertiroidismo autoinmune, como enfermedad de Graves; enfermedad de Addison (enfermedad autoinmune de las glándulas adrenérgicas); enfermedad poliglandular autoinmune (también conocida como síndrome poliglandular autoinmune); alopecia autoinmune; anemia perniciosa; vitiligo; hipopituitarismo autoinmune; síndrome de Guillain-Barre; otras enfermedades autoinmunes; cáncer, incluidos aquellos en los que las cinasas de la familia Src se activan o expresan en forma excesiva, como carcinoma de colon y timoma, o cáncer en donde la actividad de la cinasa facilita el desarrollo o la supervivencia de tumores; glomerulonefritis, enfermedad del suero; urticaria; enfermedades alérgicas como alergias respiratorias (asma, fiebre del heno, rinitis alérgica) o alergias de piel; micosis fungoides; respuestas inflamatorias agudas (como síndrome de dificultad respiratoria aguda o del adulto y lesión isquémica-por reperfusión); dermatomiositis; alopecia areata; dermatitis actínica crónica; eczema; enfermedad de Behcet; Pustulosis palmoplantar; piodermia gangrenosa; síndrome de Sezary; dermatitis atópica; esclerosis sistémica; morfea; isquemia de extremidades periféricas y enfermedad isquémica de las extremidades; enfermedad ósea tal como osteoporosis, osteomalacia, hiperparatiroidismo, enfermedad de Paget y osteodistrofia renal; síndromes de fugas vasculares, como síndromes de fugas vasculares inducidas por quimioterapias o inmunomoduladores como IL-2; médula espinal y lesión cerebral o traumatismo; glaucoma; enfermedades retinales, como degeneración macular; enfermedad vítreo-retinal; pancreatitis; vasculitis, incluida enfermedad de Kawasaki, tromboangiitis obliterante, granulomatosis de Wegener y enfermedad de Behcet; esclerodermia; preeclampsia; talasemia; sarcoma de Kaposi; enfermedad de von Hippel Lindau; y similares.

De acuerdo con la invención, los compuestos de la invención se pueden usar para tratar enfermedades asociadas con proliferación celular indeseada o hiperproliferación que comprende identificar al animal afectado con dicha enfermedad o afección y administrar a dicho animal afectado una composición que comprende el compuesto de fórmula (I), en donde la enfermedad o afección se asocia con una cinasa.

La invención también da a conocer métodos para tratar a un animal afectado con las enfermedades y afecciones anteriormente mencionadas. La cantidad de los compuestos de la presente invención que se puede combinar con los materiales de vehículo para producir una composición en una sola forma farmacéutica variará dependiendo del hospedante tratado y el modo de administración particular. Preferiblemente, las composiciones se deben formular para que se pueda administrar una dosis entre 0,01-100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que recibe estas composiciones.

En un aspecto, los compuestos de la invención se administran en combinación con un agente quimioterapéutico, un antiinflamatorio, antihistaminas, agente quimioterapéutico, inmunomodulador, anticuerpo terapéutico o un inhibidor de proteína cinasa, p. ej., un inhibidor de tirosina cinasa, a un sujeto que necesita dicho tratamiento.

El método incluye administrar uno o más de los compuestos de la invención al mamífero afectado. El método puede además incluir la administración de un segundo agente activo, tal como un agente citotóxico, incluidos agentes alquilantes, factores de necrosis tumoral, intercaladores, inhibidores de microtubulina e inhibidores de topoisomerasa. El segundo agente activo se puede co-administrar en la misma composición o en una segunda

composición. Los ejemplos de segundos agentes activos adecuados incluyen, aunque sin limitarse a ello, un fármaco citotóxico tal como Acivicina; Aclarubicina; Hidrocloruro de Acodazol; AcrQnine; Adozelesin; Aldesleucina; Altretamina; Ambomicina; Acetato de Ametantrona; Aminoglutetimida; Amsacrina; Anastrozol; Antramincina; Asparaginasa; Asperlin; Azacitidina; Azetepa; Azotomicina; Batimastat; Benzodepa; Bicalutamida; Hidrocloruro de Bisantreno; Dimesilato de Bisnafide; Bizelesin; Sulfato de Bleomicina; Brequinar Sódico; Bropirimina; Busulfán; Cactinomicina; Calusterona; Caracemida; Carbetimer; Carboplatino; Carmustina; Hidrocloruro de Carubicina; Carzelesin; Cedefingol; Cloramucil; Cirolemicina; Cisplatino; Cladribina; Mesilato de Crisnatol; Ciclofosfamida; Citarabina; Dacarbazina; Dactinomicina; Hidrocloruro de Daunorrubicina; Decitabina; Dexormaplatino; Dezaguanina; Mesilato de Dezaguanina; Diaziquona; Docetaxel; Doxorubicina; Hidrocloruro de Doxorubicina; Droloxifeno; Citrato de Droloxifeno; Propionato de Dromostanolona; Duazomicina; Edatrexato; Hidrocloruro de Eflomitina; Elsamitrucina; Enloplatino; Enpromato; Epropidina; Hidrocloruro de Epirubicina; Erbulozol; Hidrocloruro de Esorubicina; Estramustina; Estramustina Fosfato Sódico; Etanidazol; Aceite Etiodizado 131; Etopósido; Fosfato de Etopósido; Etoprina; Hidrocloruro de Fadrozol; Fazarabina; Fenretinida; Floxuridina; Fosfato de Fludarabina; Fluorouracil; Fluorocitabina; Fosquidona; Fostriecina Sódica; Gemcitabina; Hidrocloruro de Gemcitabina; Gold Au 198; Hidroxiurea; Hidrocloruro de Idarrubicina; Ifosfamida; Ilmofoquina; Interferón Alfa-2a; Interferón Alfa-2b; Interferón Alfa-n1; Interferón Alfa-n3; Interferón Beta- α ; Interferón Gamma- Ib ; Iproplatino; Hidrocloruro de Irinotecán; Acetato de Lanreótido; Letrozol; Acetato de Leuprolide; Hidrocloruro de Liarozol; Lometrexol Sódico; Lomustina; Hidrocloruro de Losoxantrona; Masoprocol; Maitansina; Hidrocloruro de Mecloretamina; Acetato de Megestrol; Acetato de Melengestrol; Melfalán; Menogaril; Mercaptopurina; Metotrexato; Metotrexato Sódico; Metoprina; Meturedpa; Mitindomida; Mitocarcin; Mitocromin; Mitogilina; Mitomalcina; Mitomicina; Mitosper; Mitotano; Hidrocloruro de Mitoxantrona; Ácido Micofenólico; Nocodazol; Nogalamincina; Ormaplatino; Oxisuran; Paclitaxel; Pegaspargaso; Peliomincina; Pentamustina; Sulfato de Peplomincina; Perfosfamida; Pipobroman; Pipsulfán; Hidrocloruro de Piroxantrona; Plicamicina; Plomestano; Porfímero Sódico; Porfiromincina; Prednimustina; Hidrocloruro de Procarbazina; Puomicina; Hidrocloruro de Puomicina; Pirazofurin; Riboprina; Rogletimida; Safmgol; Hidrocloruro de Safingol; Semustina; Simtrazeno; Esparfosato Sódico; Esparsomicina; Hidrocloruro de Espirogermanio; Espiromustina; Espiropatino; Estreptonigrina; Estreptozocina; Cloruro de Estroncio Sr 89; Sulofenur; Talisomicina; Taxano; Taxoide; Tecogalan Sódico; Tegafur; Hidrocloruro de Teloxantrona; Temoporfin; Tenipósido; Teroxirona; Testolactona; Tiamiprina; Tioguanina; Tiotepa; Tiazofurin; Tirapazamina; Hidrocloruro de Topotecán; Citrato de Toremifeno; Acetato de Trestolona; Fosfato de Triciribina; Trimetrexato; Glucuronato de Trimetrexato; Triptorelin; Hidrocloruro de Tubulozol; Mostaza de Uracilo; Uredpa; Vapreótido; Verteporfin; Sulfato de Vinblastina; Sulfato de Vincristina; Vindesina; Sulfato de Vindesina; Sulfato de Vinepidina; Sulfato de Vinglicinato; Sulfato de Vinleurosina; Tartrato de Vinorelbina; Sulfato de Vinrosidina; Sulfato de Vinzolidina; Vorozol; Zeniplatino; Zinostatina; e Hidrocloruro de Zorubicina.

De conformidad con la invención, los compuestos y composiciones se pueden usar a niveles subcitotóxicos en combinación con otros agentes con el fin de lograr actividad altamente selectiva en el tratamiento de trastornos no neoplásicos, como cardiopatía, accidente cerebrovascular y enfermedades neurodegenerativas (Whitesell et al., *Curr Cancer Drug Targets* (2003), 3(5), 349-58).

Los agentes terapéuticos ilustrativos que se pueden administrar en combinación con los compuestos de la invención incluyen inhibidores de EGFR, como gefitinib, erlotinib y cetuximab. Los inhibidores de Her2 incluyen canertinib, EKB-569 y GW-572016. También se incluyen los inhibidores de Src, dasatinib, además de Casodex (bicalutamida), Tamoxifen, inhibidores de cinasa MEK-1, inhibidores de cinasa MARK, inhibidores de PI3 e inhibidores de PDGF como imatinib, inhibidores de Hsp90, como 17-AAG y 17-DMAG. También se incluyen los agentes anti-angiogénicos y anti-vasculares que, al interrumpir el flujo sanguíneo hacia los tumores sólidos, tornan las células cancerosas quiescentes, privándolas de nutrición. La castración, que también torna los carcinomas dependientes de andrógenos no proliferativos, también se puede utilizar. También se incluyen inhibidores de IGF1R, inhibidores de receptores y no receptores de tirosina cinasas e inhibidores de integrina.

La composición farmacéutica y el método de la presente invención pueden además combinarse con otros agentes terapéuticos de proteína tales como citocinas, agentes inmunomoduladores y anticuerpos. Tal como se emplea en esta memoria, el término "citocina" abarca quimiocinas, interleucinas, linfocinas, monocinas, factores estimulantes de colonias y proteínas asociadas a los receptores, y sus fragmentos funcionales. Tal como se emplea en este documento, la expresión "fragmento funcional" se refiere a un polipéptido o péptido que posee función o actividad biológica que se identifica mediante un ensayo funcional definido. Las citocinas incluyen el polipéptido activador de monocitos endoteliales II (EMAP- II), granulocitos-macrófagos-CSF (GM-CSF), granulocitos-CSF (G-CSF), macrófago-CSF (M-CSF), IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12 e IL-13, interferones, y similares y que se asocia con una alteración biológica, morfológica o fenotípica particular en una célula o mecanismo celular.

Otros agentes terapéuticos para la terapia combinatoria incluyen ciclosporinas (p. ej., ciclosporina A), CTLA4-Ig, anticuerpos tales como ICAM-3, receptor anti-IL-2 (Anti-Tac), anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3 (OKT-3), anti-CD4, anti-CD80, anti-CD86, agentes que bloquean la interacción entre CD40 y gp39, como anticuerpos específicos para CD40 y para gpn39 (es decir, CD154), proteínas de fusión construidas a partir de CD40 y gp39 (CD40Ig y CD8gp39), inhibidores, tales como inhibidores de translocación nuclear, de función NF-kappa B, como desoxispergualina (DSG), inhibidores de biosíntesis de colesterol tales como inhibidores de HM:G CoA reductasa (lovastatina y simvastatina), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como ibuprofeno e inhibidores de

ciclooxigenasa como rofecoxib, esteroides tales como prednisona o dexametasona, compuestos de oro, agentes antiproliferativos como metotrexato, FK506 (tacrolimo, Prograf), micofenolato mofetilo, fármacos citotóxicos tales como azatioprina y ciclofosfamida, inhibidores de TNF- α como tenidap, anticuerpos anti-TNF o receptores de TNF soluble y rapamicina (sirolimus o Rapamune) o sus derivados.

- 5 Cuando se emplean otros agentes terapéuticos en combinación con los compuestos de la presente invención, se pueden usar, por ejemplo, en las cantidades observadas en Physician Desk Reference (PDR) o según lo determinado por alguien con experiencia en la técnica.

Lo siguiente demuestra la estructura química y la síntesis de 2 "intermedios" útiles en la síntesis de 61 "compuestos." Los 61 compuestos se ensayarán por su capacidad de inhibir un intervalo de cinasas.

- 10 Todas las síntesis se llevarán a cabo bajo condiciones anhidras (es decir, disolventes secos) en una atmósfera de argón, excepto en donde se indique, usando un aparato secado en estufa y técnicas convencionales en la manipulación de materiales sensibles al aire. Se saturaron disoluciones acuosas de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y cloruro de sodio (salmuera). Se llevó a cabo una cromatografía en capa delgada (TLC) analítica en placas de gel Merck Kiesel 60 F254 con visualización de luz ultravioleta y/o anisaldehído, permanganato de potasio o inmersiones en ácido fosfomolibdico.

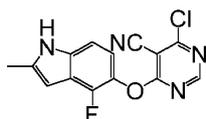
- 15 Espectros RMN: los espectros ^1H de resonancia magnética nuclear se registraron a 400 MHz. Los datos se presentan de la siguiente manera: desplazamiento químico, multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, qn = quintete, dd = doble de dobletes, m = multiplete, bs = singlete ancho), constante de acoplamiento (J/Hz) e integración. Se tomaron las constantes de acoplamiento y se calcularon directamente a partir de los espectros y no están corregidas.

- 20 Espectros de masas de baja resolución. Se empleó ionización por electropulverización (ES^+). Se cita el ion parental protonado ($\text{M}+\text{H}$) o el ion sódico parental ($\text{M}+\text{Na}$) o el fragmento de la masa más alta. El gradiente analítico consistió en 10% ACN en agua ascendiendo hasta 100% ACN en 5 minutos, a menos que se indique otra cosa.

- 25 Se utilizó cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) para analizar la pureza de los derivados. Se efectuó HPLC en una columna Phenomenex Synergi Polar-RP, 4u, 80A, 150 x 4,6 mm usando un sistema Shimadzu equipado con un detector de estructuras de fosfodiodos SPD-M10A. La fase móvil A fue agua y la fase móvil B fue acetonitrilo con un gradiente de 20% a 80% B durante 60 minutos y se re-equilibró a A/B (80:20) durante 10 minutos. La detección UV tuvo lugar a 220 y 54 nm.

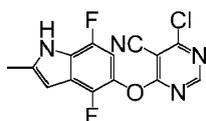
- 30 Lo siguiente demuestra que la estructura química y la síntesis de dos compuestos intermedios ("intermedio 1" e "intermedio 2") conocidos por los expertos en la técnica han sido útiles para sintetizar derivados de pirimidina que pueden tener actividad inhibidora de cinasas.

Intermedio 1



- 35 A una disolución de 4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-ol (200 mg, 1,21 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (4 ml) y N, N-dimetilformamida (1 ml) se le añadió carbonato de potasio (200 mg, 1,45 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1h a temperatura ambiente antes de añadir una suspensión de 4,6-dicloropirimidina-5-carbonitrilo (221 mg, 1,27 mmol) en 3 ml de acetonitrilo. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con agua y acetato de etilo. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con agua, luego con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y el filtrado se concentró al vacío para dar el producto deseado en la forma de sólidos RMN (365 mg, 99% de rendimiento). ^1H marrones (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,46 (br, 1H), 8,83 (s, 1H), 7,17 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,00 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,27 (s, 1H), 2,41 (s, 3H); ESI-MS: calc. para ($\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClFN}_4\text{O}$) 302, encontrado 303 (MH^+).

Intermedio 2

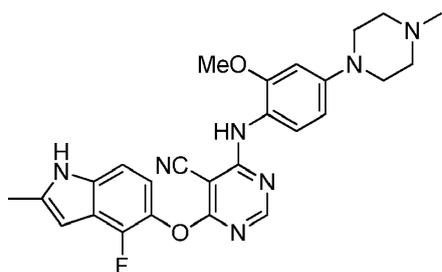


- 45 A una disolución de 4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-ol (500 mg, 2,73 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (9 ml) y N,N-dimetilformamida (1 ml) se le añadió carbonato de potasio (453 mg, 3,28 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min. a temperatura ambiente antes de añadir una suspensión de 2,4-dicloro-5-cianopirimidina (499 mg,

2,87 mmol) en acetonitrilo/DMF (2,5 ml/2,5 ml). Esta mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con agua/salmuera y acetato de etilo. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con agua/salmuera tres veces, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y el filtrado se concentró al vacío para dar el compuesto deseado en la forma de sólidos pegajosos de color púrpura (890 mg, 100% rendimiento, contenían algo de DMF). El producto se usó sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,91 (br, 1H), 8,84 (s, 1H), 7,03 (dd, J = 5,6 Hz, J=10,4Hz, 1H), 6,35 (br, 1H), 2,39 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₄H₇ClF₂N₄O) 320, encontrado 321 (MH⁺).

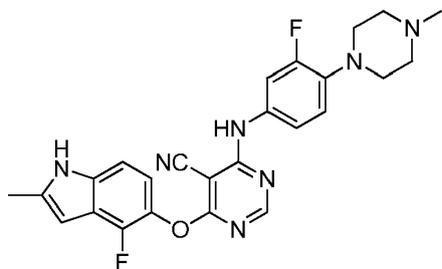
5 Lo siguiente demuestra la estructura química y un método para sintetizar 61 derivados de pirimidina ("compuesto 1" a "compuesto 61") que son especies del compuesto genérico descrito en este documento.

Compuesto de referencia 1



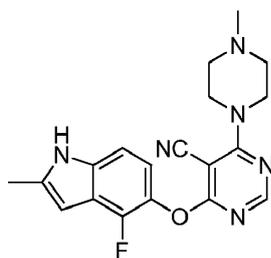
15 Una mezcla del Intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 2-metoxi-4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina (73 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,08 ml, 0,49 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de verificar la TLC, se añadió agua a la mezcla (100 ml). Después de enfriar con un baño de agua, se recogieron los sólidos por filtración y se lavaron con agua. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (64 mg, 40% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,34 (br, 1H), 9,45 (br s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,13 (m, 2H), 6,93 (m, 1H), 6,65 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 6,23 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,18 (m, 4H), 2,46 (m, 4H), 2,39 (s, 3H), 2,23 (s, 3H); ESI-MS: calc. para C₂₆H₂₆N₇O₂ 487, encontrado 488 (MH⁺). HPLC: tiempo de retención: 18,63 min. pureza: 96%.

Compuesto de referencia 2



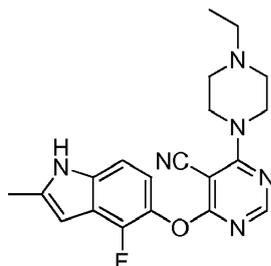
25 Una mezcla del Intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 3-fluoro-4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina (69 mg, 0,33 mmol), y DIPEA (0,15 ml, 0,82 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de comprobar la TLC, a la mezcla se le añadió agua (100 ml). Después de enfriar en un baño de hielo, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos pardos (90 mg, 57% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,36 (br, 1H), 10,0 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,98 (m, 2H), 6,24 (br s, 1H), 3,00 (m, 4H), 2,50 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,23 (s, 3H); ESI-MS: calc. para C₂₅H₂₃F₂N₇O 475, encontrado 476 (MH⁺). HPLC: tiempo de retención: 19,15 min. pureza: 95%.

Compuesto de referencia 3



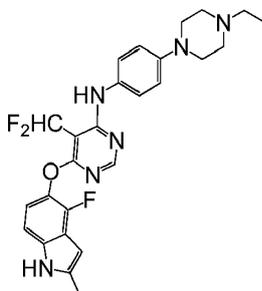
Una mezcla del Intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)anilina (68 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,15 ml, 0,82 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de verificar la TLC, se añadió agua a la mezcla (100 ml). Después de enfriar con un baño de hielo, se recogieron los sólidos por filtración y se lavaron con agua. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos blanquecinos (41 mg, 26% rendimiento) ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,34 (br s, 1H), 8,24 (m, 1H), 7,12 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 6,22 (s, 1H), 3,95 (m, 4H), 2,41s (m, 4H), 2,39 (s, 3H), 2,24 (s, 3H); ESI-MS: calc. para C₁₉H₁₉N₆O 366, encontrado 367 (MH⁺). HPLC: tiempo de retención: 12,36 min. pureza: 98%.

Compuesto de referencia 4



Una mezcla del Intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)anilina (72 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,15 ml, 0,82 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de verificar la TLC, se añadió agua a la mezcla (100 ml). Después de enfriar con un baño de hielo, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos blanquecinos (18 mg, 11% rendimiento) ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,34 (br s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,12 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 6,23 (s, 1H), 3,96 (m, 4H), 2,52 (m, 3H), 2,45 (m, 4H), 1,23 (m, 2H), 1,050 (m, 3H); ESI-MS: calc. para C₂₀H₂₁N₆O 380, encontrado 381 (MH⁺). HPLC: tiempo de retención: 13.77 min. pureza: 93%.

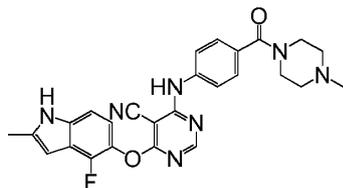
Compuesto de referencia 5



Etapa 1: A una disolución de fluoroindol (415 mg, 2,51 mmol) y 4,6-dicloro-5-(difluorometil)piridina (500 mg, 2,51 mmol) en DMSO (3 ml) se le añadió carbonato de potasio (695 mg, 5,03 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y el material de partida se había consumido. La mezcla de reacción se añadió a un matraz con agua/salmuera (50 ml/50 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se recogió en un baño de hielo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para obtener el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (803 mg, 98% rendimiento). No se llevó a cabo ninguna purificación adicional y el producto se usó en la siguiente etapa de reacción. ¹H RMN(400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,39 (br, 1H), 8,71 (s, 1H), 7,51 (t, J=52,4 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,96 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,25 (s, 1H), 2,40 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₄H₉ClF₃N₃O) 327, encontrado 328 (MH⁺).

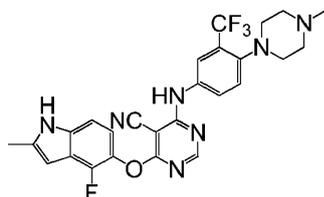
Etapa 2: Una mezcla del intermedio anterior (125 mg, 0,61 mmol), 4-(4-Etilpiperazina-1-il)anilina (200 mg, 0,61 mmol) y DIPEA (0,27 ml, 1,52 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a 100 °C durante 2 h, luego a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. Se añadió agua/NH₄Cl sat. (50 ml/50 ml) a la mezcla, y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta ~ 6 usando HCl 2N. Se enfrió a 4 °C y los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua para dar el producto bruto fino pegajoso. El producto bruto se disolvió en DCM/MeOH (2 ml/2 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó en columna (0-10% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (103 mg, 34% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,32 (br, 1H), 10,49 (br, 1H), 8,93 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,36 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,10 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 6,86 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,21 (s, 1H), 3,80 (br, 2H), 3,55 (br, 2H), 3,10 (m, 6H), 2,39 (s, 3H), 1,28 (t, J=7,2Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₇F₃N₆O) 496, encontrado 497 (MH⁺).

Compuesto de referencia 6



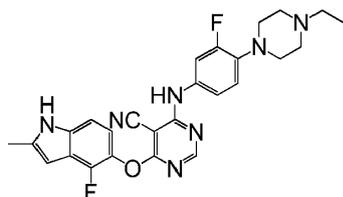
Se cargó un matraz con el intermedio 1 (150 mg, 0,5 mmol), 1-(4-aminobenzoyl)-4-metil piperazina (109 mg, 0,5 mmol), TFA (50 μ L), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4 h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con una disolución saturada, acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna rápida (0-10% MeOH- en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (160 mg, 66% rendimiento). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,36 (br, 1H), 10,17 (br, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,63 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,96 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 3,80-3,40 (br, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,36-2,24 (br, 4H), 2,19 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₄FN₂O₂) 485, encontrado 486 (MH⁺).

Compuesto de referencia 7



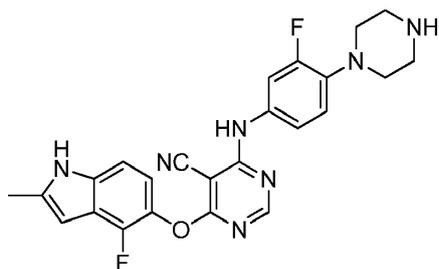
Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-(4-metilpiperazin-1-il)-3-(trifluorometil)anilina (86 mg, 0,33 mmol), TFA (50 μ L), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH- en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (103 mg, 60% rendimiento). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,36 (br, 1H), 10,18 (br, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,90-7,80 (m, 2H), 7,55 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,95 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,85 (m, 4H), 2,49-2,32 (m, 7H), 2,23 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₃F₄N₂O) 525, encontrado 526 (MH⁺).

Compuesto de referencia 8



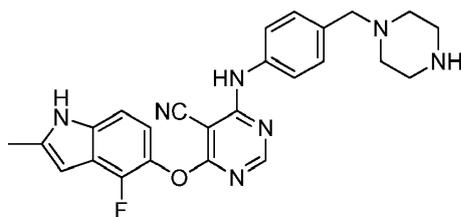
Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-(4-etilpiperazin-1-il)-3-fluoroanilina (74 mg, 0,33 mmol), TFA (50 μ L), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (120 mg, 74% rendimiento). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,36 (br, 1H), 9,99 (br, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,39 (dd, J=2,0Hz, J=14,4Hz, 1H), 7,26 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,01 (t, J=9,2Hz, 1H), 6,95 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 3,00 (m, 4H), 2,60-2,45 (m, 4H), 2,40 (m, 5H), 1,02 (t, J=7,2 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₂O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

Compuesto de referencia 9



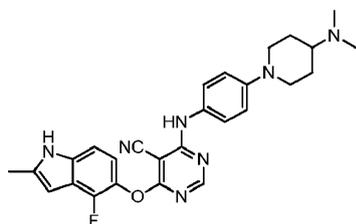
Una mezcla del intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-(4-amino-2-fluorofenil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (97 mg, 0,33 mmol), y DIPEA (0,15 ml, 0,82 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de verificar la TLC, se añadió agua a la mezcla (100 ml). Tras enfriar con un baño de hielo, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. Después de secar al aire a temperatura ambiente durante la noche, los sólidos se suspendieron en DCM/MeOH (10/1,5 ml) y se añadió 1 ml de TFA. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de concentrar, el residuo se disolvió en DCM/MeOH (8/2, 15 ml) y se añadió disolución sat. de bicarbonato sódico a pH aproximadamente 7. El extracto orgánico se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos blanquecinos (60 mg, 39% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,36 (br, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,97 (m, 8H), 2,40 (m, 3H); ESI-MS: calc. para C₂₄H₂₁F₂N₇O 461, encontrado 462(MH⁺). HPLC: tiempo de retención: NA

Compuesto de referencia 10



Una mezcla del intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-(4-aminobencil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (96 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,15 ml, 0,82 mmol) en DMSO (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de verificar la TLC, se añadió agua a la mezcla (100 ml). Después de enfriar con un baño de hielo, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. Después de secar al aire a temperatura ambiente durante la noche, los sólidos se suspendieron en DCM/MeOH (10/1, 5 ml) y se añadió 1 ml de TFA. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de concentrar, el residuo se disolvió en DCM/MeOH (8/2, 15 ml) y se añadió disolución saturada de bicarbonato sódico hasta pH aproximadamente 7. El extracto orgánico se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (15 mg, 10% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,48 (br, 1H), 10,06 (s, 1H), 8,90 (m, 2H), 8,28 (m, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,29 (m, 2H), 7,13 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 6,23 (s, 1H), 3,53 (m, 2H), 3,09 (m, 4H), 2,54 (m, 4H), 2,40 (m, 3H); ESI-MS: calc. para C₂₅H₂₄FN₇O 457, encontrado 458 (MH⁺). HPLC: tiempo de retención: 13,75 min. pureza: 91%.

Compuesto de referencia 11

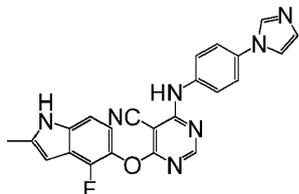


Etapa 1: Una mezcla de 1-fluoro-4-nitrobenceno (3,00 g, 21,3 mmol), dihidrocloruro de N,N-dimetilpiperidin-4-amina (4,70 g, 23,4 mmol) y DIPEA (15 ml, 86,1 mmol) se agitó a 95 °C durante 18 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con 1:1 EtOAc/hexanos (100 ml), se lavó dos veces con gluconato de calcio acuoso (100 ml cada vez, 50% saturación), y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, y se concentró para dar el producto deseado en la forma de un aceite rojo (4,1 g, 77% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,03 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,01 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,04-4,01 (m, 2H), 3,02-2,95 (m, 2H), 2,39-2,32 (m, 1H), 2,17 (s, 6H), 1,85-1,81 (m, 2H), 1,44-1,34 (m, 2H); MS (ESI): calc. para C₁₃H₁₉N₃O₂: 249, encontrado: 250 (MH⁺).

Etapa 2: Una mezcla de N,N-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperidin-4-amina (1,5 g, 6,0 mmol), dihidrato de cloruro de estaño (II) (6,8 g, 30 mmol) y metanol (100 ml) se agitó a 70 °C durante 19 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con 4:1 EtOAc/hexanos (200 ml), se lavó con NaOH ac. 5M (200 ml), y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0-20% MeOH en DCM (v/v) como eluyente para dar el producto deseado 1-(4-aminofenil)-N,N-dimetilpiperidin-4-amina en la forma de un sólido amarillo ligero (340 mg, 26% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 6,67 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,47 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,53 (br s, 2H), 3,37-3,34 (m, 2H), 2,48-2,42 (m, 2H), 2,18 (s, 6H), 2,11-2,05 (m, 1H), 1,80-1,77 (m, 2H), 1,51-1,41 (m, 2H); MS (ESI): calc. para C₁₃H₂₁N₃: 219, encontrado: 220 (MH⁺).

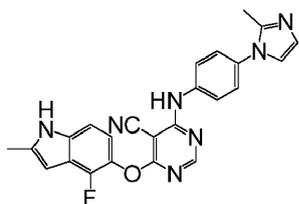
Etapa 3: A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (200 mg, 0,661 mmol) y 1-(4-aminofenil)-N,N-dimetilpiperidin-4-amina (142 mg, 0,647 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,28 ml; 1,98 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón durante 19 h. La mezcla resultante se diluyó con 4:1 EtOAc/hexanos (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación de NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización de EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (254 mg, 81% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,35 (br s, 1H), 9,83 (br s, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,30-7,28 (m, 2H), 7,13-7,11 (m, 1H), 6,95-6,91 (m, 2H), 6,23 (s, 1H), 3,71-3,68 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,24-2,21 (m, 1H), 2,19 (s, 6H), 1,84-1,81 (m, 2H), 1,52-1,42 (m, 2H); MS (ESI): calc. para C₂₇H₂₈FN₇O: 485, encontrado: 486 (MH⁺).

Compuesto de referencia 12



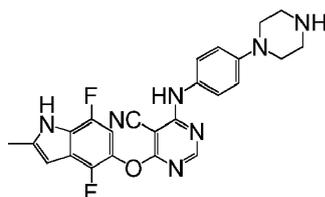
Una mezcla del intermedio 1 (150 mg, 0,50 mmol), 4-imidazol-1-il-fenilamina (91 mg, 0,57 mmol), y DIPEA (0,22 ml, 1,245 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se añadió a NH₄Cl sat./agua (25 ml/50 ml ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta aproximadamente 6 usando HCl 2N. Después de enfriar con hielo durante 1h, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó por columna sobre gel de sílice (0-10% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (140 mg, 66% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,36 (br, 1H), 10,16 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,66 (m, 5H), 7,14 (m, 2H), 6,95 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,40 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₃H₁₆FN₇O) 425, encontrado 426 (MH⁺).

Compuesto de referencia 13



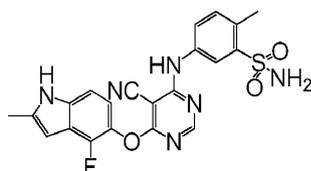
Una mezcla del intermedio 1 (150 mg, 0,50 mmol), 4-(2-metilimidazol-1-il)-fenilamina (99 mg, 0,57 mmol), y DIPEA (0,22 ml, 1,245 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se añadió a NH₄Cl sat./agua (25 ml/50 ml ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta aproximadamente 6 usando HCl 2N. Después de enfriar con hielo durante 1h, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó por columna en gel de sílice (0-10% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (108 mg, 50% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,36 (br, 1H), 10,16 (br, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,70 (d, J=8,8Hz, 2H), 7,42 (d, J=8,8Hz, 2H), 7,28 (br, 1H), 7,14 (d, J=8,4Hz, 1H), 6,96 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,25 (s, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,30 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₄H₁₈FN₇O) 439, encontrado 440 (MH⁺).

Compuesto de referencia 14



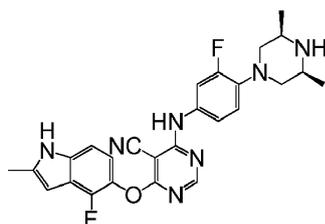
Una mezcla del intermedio 2 (150 mg, 0,47 mmol), 4-(4-aminofenil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (149 mg, 0,54 mmol), y DIPEA (0,21 ml, 1,17 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se añadió a NH_4Cl sat./agua (25 ml/50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta aproximadamente 6 usando HCl 2N. Después de enfriar con hielo durante 1h, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto. El producto bruto se suspendió en DCM (10 ml) y se añadió 1 ml de TFA (la mezcla se tornó una disolución clara). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió fosfato de potasio en agua a la mezcla (pH aproximadamente 8), y se extrajo con DCM/MeOH. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se concentró y se purificó por columna en gel de sílice (5-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (97 mg, 45% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,90 (br, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,32 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,00 (dd, $J=5,6$ Hz, $J=10,4$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,14 (m, 4H), 2,99 (m, 4H), 2,41 (s, 3H) (NH puede ocultarse debajo del pico de disolvente); ESI-MS: calc. para ($\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_7\text{O}$) 461, encontrado 462 (MH^+).

15 Compuesto de referencia 15



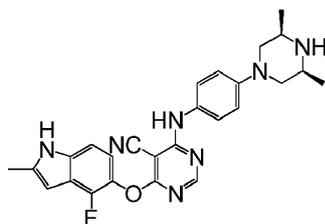
Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 5-Amino-2-metilbencenosulfonamida (77 mg, 0,41 mmol), TFA (50 μl), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con una disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (79 mg, 53% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,36 (br, 1H), 10,25 (br, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,07 (br, 1H), 7,69 (dd, $J=2,4$ Hz, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,39 (br, 2H), 7,37 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,13 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 6,95 (t, $J=7,6$ Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,57 (s, 3H), 2,40 (s, 3H); ESI-MS: calc. para ($\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{FN}_6\text{O}_3\text{S}$) 452, encontrado 453 (MH^+).

25 Compuesto de referencia 16



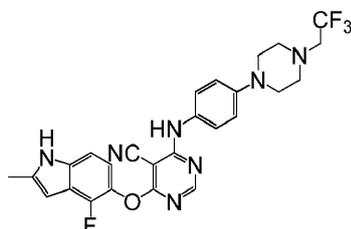
Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-((3S,5R)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)-3-fluoroanilina (92 mg, 0,41 mmol), TFA (50 μl), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (118 mg, 73% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,35 (br, 1H), 9,98 (br, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,40 (dd, $J=2,4$ Hz, $J=14,4$ Hz, 1H), 7,26 (dd, $J=2,0$ Hz, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,12 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 6,95 (m, 2H), 6,24 (s, 1H), 3,17 (d, $J=9,6$ Hz, 2H), 2,91 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,19 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,98 (s, 3H); ESI-MS: calc. para ($\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{N}_7\text{O}$) 489, encontrado 490 (MH^+).

35 Compuesto 17



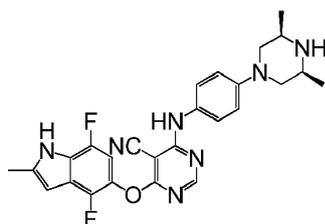
- 5 Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-((3S,5R)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)anilina (85 mg, 0,41 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4 h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (122 mg, 78% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,36 (br, 1H), 9,84 (br, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,28 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,92 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,11 (m, 3H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₆FN₇O) 471, encontrado 472 (MH⁺).

10 Compuesto de referencia 18



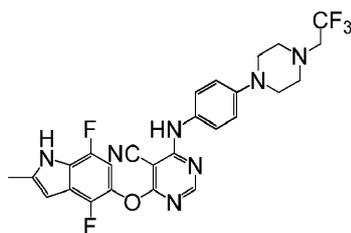
- 15 Se cargó un matraz con el intermedio 1 (100 mg, 0,33 mmol), 4-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)anilina (86 mg, 0,33 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada, acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% EtOAc en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (73 mg, 42% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,36 (br, 1H), 9,86 (br, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,31 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,94 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 3,23 (q, J=10 Hz, 2H), 3,13 (m, 4H), 2,76 (m, 4H), 2,34 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₃F₄N₇O) 525, encontrado 526 (MH⁺).

20 Compuesto 19



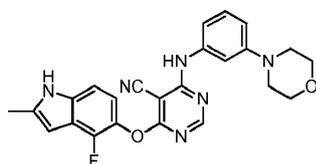
- 25 Se cargó un matraz con el intermedio 2 (100 mg, 0,31 mmol), 4-((3S,SR)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)anilina (80 mg, 0,39 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se basificó con una disolución saturada acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (146 mg, 95% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,86 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (m, 2H), 1,02 (d, J=6,4 Hz, 6H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

30 Compuesto de referencia 20



Se cargó un matraz con el intermedio 2 (100 mg, 0,31 mmol), 4-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)anilina (101 mg, 0,39 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante 4h. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de bicarbonato sódico y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% EtOAc en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (101 mg, 60% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,88 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,8 Hz, 1H), 6,94 (d, J=9,2 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,25 (q, J=10,0 Hz, 2H), 3,14 (m, 4H), 2,76 (m, 4H), 2,41 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₂F₅N₇O) 543, encontrado 544 (MH⁺).

10 Compuesto de referencia 21



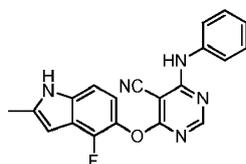
A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (200 mg, 0,661 mmol) y 3-morfolinoanilina (124 mg, 0,694 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,28 ml; 1,98 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización de EtOAc para proporcionar el producto deseado en la forma de un sólido pardo (123 mg, 42% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,36 (br s, 1H), 9,89 (br s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,23-7,19 (m, 1H), 7,14-7,10 (m, 2H), 7,05-7,03 (m, 1H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,79-6,77 (m, 1H), 3,75-3,73 (m, 4H), 3,11-3,09 (m, 4H), 2,40 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₄H₂₁N₆O₂: 444, encontrado: 445 (MH⁺).

Compuesto de referencia 22



A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (200 mg, 0,661 mmol) y 3-(4-etilpiperazin-1-il)anilina (193 mg, 0,694 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,28 ml; 1,98 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización de EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido pardo (221 mg, 69% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,36 (br s, 1H), 9,86 (br s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,20-7,08 (m, 3H), 7,02-6,92 (m, 2H), 6,78-6,75 (m, 1H), 3,14-3,12 (4H), 2,48 (m, 4H); oscurecido por señal de DMSO), 2,40 (s, 3H), 2,37 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₆H₂₆N₇O: 471, encontrado: 472 (MH⁺).

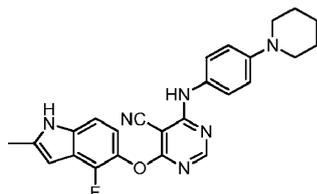
Compuesto de referencia 23



35

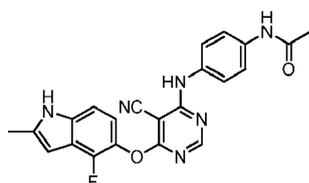
5 A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (200 mg, 0,330 mmol) y anilina (33 μ l, 0,363 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,14 ml; 0,99 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0-100% EtOAc en hexanos (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (93 mg, 78% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,36 (br s, 1H), 10,04 (br s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,53 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,39-7,35 (m, 2H), 7,20-7,12 (m, 2H), 6,97-6,93 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,40 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₀H₁₄FN₅O: 359, encontrado: 360 (MH⁺).

Compuesto de referencia 24



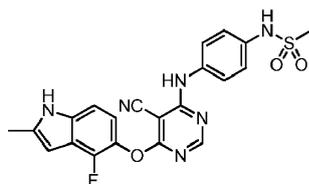
15 A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y anilina (33 μ l, 0,363 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,14 ml; 0,99 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0-100% EtOAc en hexanos (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (93 mg, 78% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,35 (br s, 1H), 9,82 (br s, 1H), 8,21 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,95-6,90 (m, 3H), 6,23 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 3,14-3,11 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 1,65-1,51 (m, 6H); MS (ESI): calc. para C₂₅H₂₃FN₆O: 442, encontrado: 443 (MH⁺).

Compuesto de referencia 25



25 A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y N-(4-aminofenil)acetamida (54 mg, 0,36 mmol) en DMSO anhidro (2,0 ml) se le añadió TEA (0,14 ml; 0,99 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NH₄Cl) seguido de salmuera (100 ml; 50% saturación). Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización de EtOAc para dar el producto deseado N-(4-((5-ciano-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidin-4-il)amino)fenil)acetamida en la forma de un sólido blanquecino (88 mg, 64% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,37 (br s, 1H), 9,99 (br s, 1H), 9,98 (br s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,57-7,55 (m, 2H), 7,42-7,40 (m, 2H), 7,14-7,11 (m, 1H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,04 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₂H₁₇FN₆O₂: 416, encontrado: 417 (MH⁺).

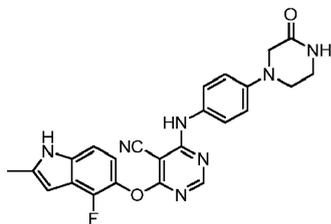
Compuesto de referencia 26



40 A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y N-(4-aminofenil)metanosulfonamida (68 mg, 0,36 mmol) en isopropanol anhidro (5,0 ml) se le añadió TFA (0,05 ml; 0,65 mmol), y la mezcla resultante se agitó en forma eficiente a 80 °C en atmósfera de argón durante 22 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se

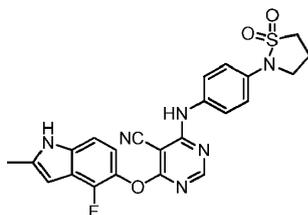
purificó por cristalización de EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (97 mg, 65% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,35 (br s, 1H), 10,02 (br s, 1H), 9,71 (br s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,49-7,46 (m, 2H), 7,21-7,11 (m, 3H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,40 (s, 3H); MS (ESI): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{FN}_6\text{O}_3\text{S}$: 452, encontrado: 453 (MH^+).

5 Compuesto de referencia 27



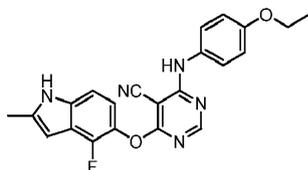
A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y 4-(4-aminofenil)piperazin-2-ona (69 mg, 0,36 mmol) en DMSO anhidro (3,0 ml) se le añadió TEA (0,14 ml; 0,99 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 27 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO_3 acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO_3). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (88 mg, 64% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,34 (br s, 1H), 9,86 (br s, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,04 (br s, 1H), 7,35-7,33 (m, 2H), 7,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,95-6,91 (m, 2H), 6,24-6,23 (m, 1H), 3,71 (s, 2H), 3,41-3,38 (m, 2H), 3,32-3,29 (m, 2H; oscurecido por señal de agua), 2,40 (s, 3H); MS (ESI): calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{FN}_7\text{O}_2$: 457, encontrado: 458 (MH^+).

Compuesto de referencia 28



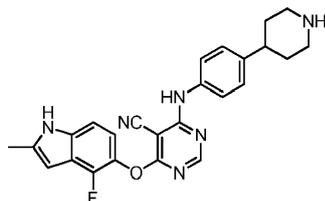
A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y 2-(4-aminofenil)isotiazolidina 1,1-dióxido (77 mg, 0,36 mmol) en isopropanol anhidro (5,0 ml) se le añadió TFA (0,05 ml; 0,65 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 80 °C en atmósfera de argón durante 22 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO_3 acuoso (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO_3). Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (97 mg, 65% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,37 (br s, 1H), 10,06 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,52-7,49 (m, 2H), 7,22-7,19 (m, 2H), 7,12 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,97-6,93 (m, 1H), 3,74 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,51 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,44-2,37 (m, 2H), 2,40 (s, 3H); MS (ESI): calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{FN}_6\text{O}_3\text{S}$: 478, encontrado: 479 (MH^+).

Compuesto de referencia 29



A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y 4-etoanilina (47 μl , 0,36 mmol) en DMSO anhidro (3,0 ml) se le añadió TEA (0,14 ml; 0,99 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón durante 23 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO_3 ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO_3). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, usando 0-100% EtOAc en hexanos (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (111 mg, 83% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,35 (br s, 1H), 9,90 (br s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,37 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,95-6,90 (m, 3H), 6,23 (s, 1H), 4,02 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,33 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H); MS (ESI): calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{O}_2$: 403, encontrado: 404 (MH^+).

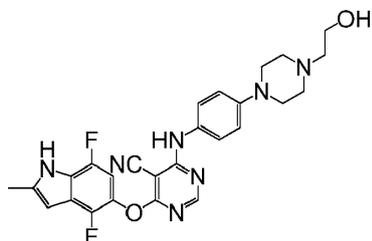
Compuesto de referencia 30



5 Etapa 1: A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (200 mg, 0,661 mmol) y 4-(4-aminofenil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (201 mg, 0,727 mmol) en DMSO anhidro (3,0 ml) se le añadió TEA (0,28 ml; 1,98 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 20 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0-100% EtOAc en hexanos (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (322 mg, 90% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,36 (br s, 1H), 9,98 (br s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,42 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,24-6,23 (m, 1H), 4,11-4,06 (m, 1H), 2,84-2,78 (m, 2H), 2,70-2,64 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,77-1,74 (m, 2H), 1,54-1,41 (m, 2H), 1,42 (s, 9H); MS (ESI): calc. para C₃₀H₃₁N₆O₃: 542, encontrado: 442 (M-BOC+H⁺).

15 Etapa 2: Una mezcla de 4-(4-((5-ciano-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidin-4-il)amino)fenil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0,369 mmol) se agitó en 8% TFA en DCM (10 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃) tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc. El líquido madre se concentró para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco vidrioso (60 mg, 40% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,37 (br s, 1H), 9,99 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,44-7,42 (m, 2H), 7,23-7,20 (m, 2H), 7,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,24-6,23 (m, 1H), 3,13-3,10 (m, 2H), 2,72-2,60 (m, 3H), 2,40 (s, 3H), 1,77-1,72 (m, 2H), 1,62-1,52 (m, 2H); MS (ESI): calc. para C₂₅H₂₃N₆O: 442, encontrado: 443 (MH⁺).

Compuesto de referencia 31

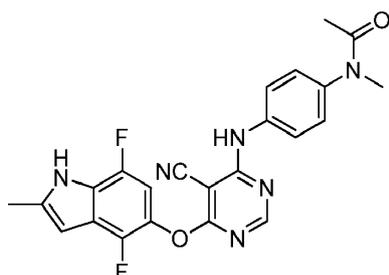


25 Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (2,0 g, 14,16 mmol) en AcN (15 ml), se le añadieron 2-(piperazin-1-il)etanol (1,85 g, 14,17 mmol) y DIEA (2,97 ml, 17,01 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 15 h (en un tubo sellado). Después de enfriar, la mezcla resultante se vertió en agua (300 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto deseado en la forma de sólidos blanquecinos (2,74 g, 72% rendimiento). ESI-MS calc. para (C₁₂H₁₇N₃O₃) 251, encontrado 252 [M+H]⁺.

30 Etapa 2: Una disolución del producto anterior (2,74 g) en metanol (50 ml) se hidrogenó en presencia de Pd/C al 10% (270 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró con un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró al producto deseado (2,70 g) en la forma de sólidos de color amarillo ligero. El producto se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₂₁N₃) 219, encontrado 220 (MH⁺).

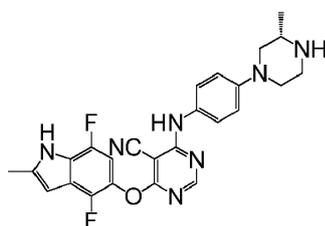
35 Etapa 3: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 2-(4-(4-aminofenil)piperazin-1-il)etanol (30,4 mg, 0,16 mmol), DIPEA (60 μl), DMSO (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante más de. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (42 mg, 54% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,86 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J=8,8Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (m, 2H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

Compuesto de referencia 32



Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 2-(4-(4-aminofenil)piperazin-1-il)etanol (30,4 mg, 0,16 mmol), DIPEA (60 μ l), DMSO (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante más de. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para proporcionar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (42 mg, 54% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,86 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 7,00 (dd, $J=5,6$ Hz, $J=10,4$ Hz, 1H), 6,90 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (m, 2H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

Configuración (S) del compuesto 33

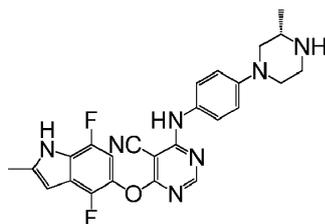


Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenceno (0,5 g, 3,54 mmol) en AcN (30 ml), se añadieron 2-metilpiperazina-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (0,71 g, 3,54 mmol) y DIEA (0,74 ml, 4,25 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 15 h (en un tubo sellado). Después de enfriar, la mezcla resultante se vertió en agua (300 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción resultante se extrajo con EtOAc (3x30 ml) y Na₂SO₄ anhidro, y se concentró al vacío. El producto bruto resultante se purificó por un sistema rápido Teledyne-Isco usando EtOAc/Hex, 0 a 30% de acetato de etilo en hexano para dar el compuesto (S)-4-(4-nitrofenil)-2-metilpiperazina-1-carboxilato de terc-butilo en la forma de sólidos de color amarillo ligero (710 mg, 62%) como sólidos blanquecinos. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,01 (d, $J=9,6$ Hz, 2H), 6,97 (d, $J=9,2$ Hz, 2H), 3,84 (m, 2H), 2,95-2,50 (m, 4H), 2,40 (m, 1H), 2,30 (br, 1H), 1,00 (d, $J=6,0$ Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₅N₃O₂) 221, encontrado 222 (MH⁺).

Etapa 2: Una disolución de (S)-4-(4-nitrofenil)-2-metilpiperazina-1-carboxilato in metanol de terc-butilo (30 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (70 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (S)-4-(4-aminofenil)-2-metilpiperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0,62 g, 97%) en la forma de sólidos de color amarillo ligero. El producto se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₂₁N₃) 219, encontrado 220 (MH⁺).

Etapa 3: Una mezcla del Intermedio 2 (150 mg, 0,47 mmol), 2-metilpiperazina-1-carboxilato de (s)terc-butilo (LN927, 0,05 g, 0,016 mmol) y DIPEA (60 μ l, 0,037 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se añadió a NH₄Cl sat./agua (25 ml/50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta aproximadamente 6 usando HCl 2N. Después de enfriar con hielo durante 1h, los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto. El producto bruto se suspendió en DCM (10 ml) y se añadió 1 ml de TFA (la mezcla se tornó una disolución clara). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió fosfato de potasio en agua a la mezcla (pH aproximadamente 8), y se extrajo con DCM/MeOH. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se concentró y se purificó por columna en gel de sílice (5-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (97 mg, 45% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,90 (br, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,32 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,00 (dd, $J=5,6$ Hz, $J=10,4$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,14 (m, 4H), 2,99 (m, 4H), 2,41 (s, 3H) (NH puede ocultarse debajo del pico de disolvente); ESI-MS: calc. para (C₂₄H₂₁F₂N₇O) 461, encontrado 462 (MH⁺).

Configuración (R) del compuesto 34

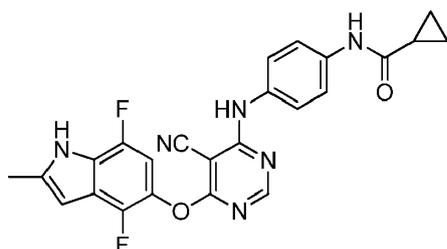


5 Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (0,5 g, 3,54 mmol) en AcN (30 ml), se le añadieron 2-metilpiperazina-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (0,71 g, 3,54 mmol) y DIEA (0,74 ml, 4,25 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 15 h (en un tubo sellado). Después de enfriar, la mezcla resultante se vertió en agua (300 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción resultante se extrajo con EtOAc (3x30 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El producto bruto resultante se purificó por el sistema rápido Teledyne-Isco usando EtOAc/Hex, 0 a 30% de acetato de etilo en hexano para dar el producto deseado (S)-2-metil-4-(4-nitrofenil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo en la forma de sólidos amarillos ligeros (720 mg, 63%) como sólidos blanquecinos. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,01 (d, J=9,6 Hz, 2H), 6,97 (d, J =9,2 Hz, 2H), 3,84 (m, 2H), 2,95-2,50 (m, 4H), 2,40 (m, 1H), 2,30 (br, 1H), 1,00 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₅N₃O₂) 221, encontrado 222 (MH⁺).

15 Etapa 2: Una disolución de (S)-2-metil-4-(4-nitrofenil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0,7 g) en metanol (30 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (70 mg) utilizando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (S)-4-(4-aminofenil)-2-metilpiperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0,61 g, 95%) en la forma de sólidos de color amarillo ligero. El producto se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₂₁N₃) 219, encontrado 220 (MH⁺).

20 Etapa 3: Una mezcla del intermedio 3 (150 mg, 0,47 mmol), (S)-4-(4-aminofenil)-2-metilpiperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0,05 g, 0,016 mmol), y DIPEA (60 μl, 0,037 mmol) en DMSO (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. La mezcla se añadió a NH₄Cl sat./agua (25 ml/50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El pH de la mezcla se ajustó hasta aproximadamente 6 usando HCl 2N. Después de enfriar con hielo durante 1h, se recogieron los sólidos por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto. El producto bruto se suspendió en DCM (10 ml) y se añadió 1 ml de TFA (la mezcla se convirtió en una disolución clara). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió fosfato de potasio en agua a la mezcla (pH aproximadamente 8), y se extrajo con DCM/MeOH. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se concentró y se purificó por columna de gel de sílice (5-15% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (97 mg, 45% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,90 (br, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,32 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J =5,6 Hz, J=10,4 Hz, 1H), 6,94 (d, J=8,8Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,14 (m, 4H), 2,99 (m, 4H), 2,41 (s, 3H) (NH puede ocultarse debajo del pico de disolvente); ESI-MS: calc. para (C₂₄H₂₁F₂N₇O) 461, encontrado 462 (MH⁺).

Compuesto de referencia 35



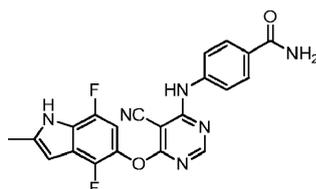
35 Etapa 1: Una mezcla de 4-nitroanilina (1,0 g, 7,24 mmol) y ciclopropil carbonilcloruro (0,83 g, 7,96 mmol) se disolvió en THF seca (30 ml). Se añadió DIPEA (3,16 ml, 18,10 mmol) a la mezcla de reacción anterior y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla bruta resultante se extrajo con EtOAc (3x30 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El producto bruto resultante se purificó por el sistema rápido Teledyne-Isco utilizando EtOAc/Hex, 0 a 30% de acetato de etilo en hexano para dar el producto deseado (4-nitrofenil)ciclopropanocarboxamida (880 mg, 62%) en la forma de sólidos blanquecinos. ESI-MS: calc. para (C₁₀H₁₀N₂O₃) 206, encontrado 207 (MH⁺).

40 Etapa 2: Una disolución de (4-nitrofenil)ciclopropanocarboxamida (0,7 g) en metanol (30 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (70 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para proporcionar el compuesto del título (4-aminofenil)ciclopropanocarboxamida en la forma de sólidos de color amarillo ligero. El producto se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapa 3: Se cargó un matraz con FA425_1 (100 mg, 0,312 mmol), N-(4-aminofenil)ciclopropanocarboxamida (LN933_1, 0,055g, 0,312 mmol), DIPEA (60 μ l), DMSO (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante más de. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos de color amarillo ligero (85 mg, 54% rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,83 (br, 1H), 9,86 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (m, 2H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

5

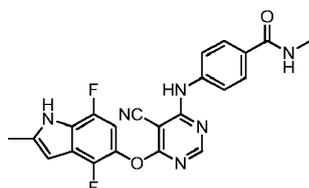
Compuesto de referencia 36



10 A una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,330 mmol) y 4-aminobenzamida (47 mg, 0,34 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,13 ml; 0,93 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó eficientemente a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante aprox. 17 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0,5-15% MeOH en DCM (v/v) para proporcionar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (42 mg, 32% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,22 (brs, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,91 (br s, 1H), 7,86 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,29 (br s, 1H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₁H₁₄F₂N₆O₂: 420, encontrado: 421 (MH⁺).

15

20 Compuesto de referencia 37

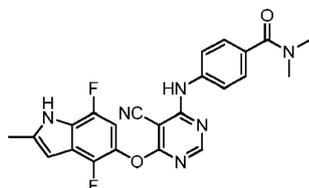


25

30

A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 4-amino-N-metilbenzamida (45 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0,5-15% MeOH en DCM (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (18 mg, 17% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,23 (br s, 1H), 8,37-8,34 (m, 2H), 7,81 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,64-7,62 (m, 2H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,78 (d, J = 4,0 Hz, 3H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₂H₁₆F₂N₆O₂: 434, encontrado: 435 (MH⁺).

Compuesto de referencia 38

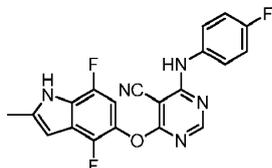


35

A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 4-amino-N,N-dimetilbenzamida (49 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización (DCM) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (49 mg, 44% rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,20 (br s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,60 (d, J = 8,4 Hz,

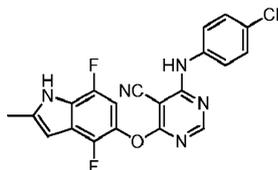
2H), 7,41 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,97 (s, 6H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₃H₁₈F₂N₆O₂: 448, encontrado: 449 (MH⁺).

Compuesto de referencia 39



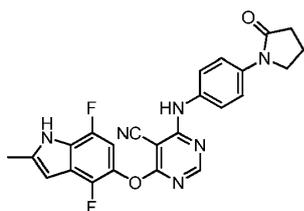
- 5 A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 4-fluoroanilina (33 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización (DCM) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (65 mg, 66% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (br s, 1H), 10,10 (br s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,54-7,51 (m, 2H), 7,23-7,29 (m, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₀H₁₂F₃N₅O: 395, encontrado: 396 (MH⁺).

Compuesto de referencia 40



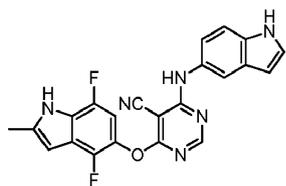
- 15 A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 4-cloroanilina (33 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización (DCM) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (65 mg, 44% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,15 (br s, 1H), 8,34 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,59-7,57 (m, 2H), 7,43 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₀H₁₂ClF₂N₅O: 411, encontrado: 412 (MH⁺).

Compuesto de referencia 41



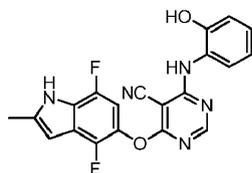
- 25 A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 1-(4-aminofenil)pirrolidin-2-ona (53 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cristalización (DCM) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (56 mg, 49% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,34 (br s, 1H), 10,07 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,64 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,48 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 3,84 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,50-2,48 (m, 2H; oscurecido por señal de DMSO), 2,42 (s, 3H), 2,11-2,03 (m, 2H); MS (ESI): calc. para C₂₄H₁₈F₂N₆O₂: 460, encontrado: 461 (MH⁺).

- 35 Compuesto de referencia 42



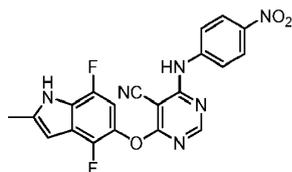
5 A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 1H-indol-5-amina (40 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0,5-15% MeOH en DCM (v/v) para proporcionar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (32 mg, 33% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,83 (br s, 1H), 11,14 (br s, 1H), 10,00 (brs, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,39-7,36 (m, 2H), 7,14-7,11 (m, 1H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,44-6,42 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 5,76 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 2,41 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₂H₁₄F₂N₆O: 416, encontrado: 417 (MH⁺).

Compuesto de referencia 43



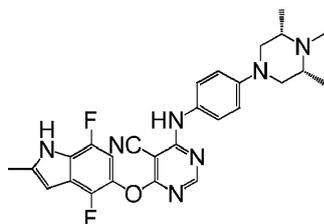
15 A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y 1H-indol-5-amina (40 mg, 0,30 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,122 ml; 0,875 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0,5-15% MeOH en DCM (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (32 mg, 33% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (br s, 1H), 9,76 (br s, 1H), 9,57 (br s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,40 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,13-7,09 (m, 1H), 7,02-6,98 (m, 1H), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,84-6,80 (m, 1H), 6,34 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 2,41 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₀H₁₃F₂N₅O₂: 393, encontrado: 394 (MH⁺).

Compuesto de referencia 44



25 Una mezcla de 4-cloro-6-((4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,31 mmol), 4-nitroanilina (47 mg, 0,34 mmol), Pd(OAc)₂ (10 mg, 0,045 mmol), xantfos (45 mg, 0,078 mmol), K₂CO₃ (150 mg, 1,09 mmol) y dioxano anhidro (12 ml) se selló en un tubo de microondas y se desgaseó con argón durante 10 min. La mezcla luego se calentó hasta 120 °C durante 20 min bajo irradiación de microondas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% NaHCO₃ sat), y la capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se recogió en EtOAc, se filtró y se lavó con más EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo ligero (54 mg, 41% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,86 (br s, 1H), 10,59 (br s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,26-8,23 (m, 2H), 7,92-7,88 (m, 2H), 7,06-7,02 (m, 1H), 6,36 (s, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₀H₁₂F₂N₆O₃: 422, encontrado: 423 (MH⁺).

Compuesto de referencia 45



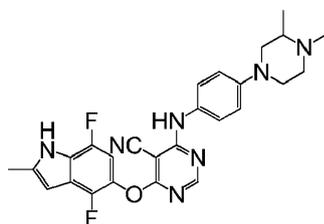
5 Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (3g, 21,26 mmol) en AcN (60 ml), se le añadieron cis-2,6-dimetilpiperazina (2,55 g, 22,32 mmol) y DIEA (3,90 ml, 22,32 mmol). La mezcla se agitó y se sometió a reflujo durante 18 h. La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó para dar. EtOAc, y se añadió agua. La mezcla se extrajo con EtOAc tres veces. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se cristalizó a partir de EtOAc para dar los sólidos amarillos de conexión inversa del producto secundario (300 mg). El líquido madre se concentró hasta una cantidad mínima de disolventes y luego se añadieron hexanos para formar el precipitado amarillo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con hexanos para dar el compuesto deseado (3R,5S)-3,5-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina en la forma de sólidos amarillos ligeros (2,60 g, 52% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,02 (d, J=9,6 Hz, 2H), 7,02 (d, J =9,2 Hz, 2H), 3,90 (m, 2H), 2,78 (m, 2H), 2,40 (m, 2H), 1,03 (d, J=5,6 Hz, 6H); ESI-MS: calc. para (C₁₂H₁₇N₃O₂) 235, encontrado 236 (MH⁺).

15 Etapa 2: A una disolución de (3R,5S)-3,5-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina (600 mg, 2,55 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió hidruro de sodio (60%, 122 mg g, 3,06 mmol) en porciones y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se añadió yodometano (0,19 ml g, 3,06 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y el material de partida se había consumido. La mezcla se vertió en agua fría en porciones y se extrajo con EtOAc (3x50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar 4-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)nitrobenzoceno en la forma de un sólido amarillo (100 mg, 15% rendimiento). No se llevó a cabo ninguna otra purificación. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₁₉N₃O₂) 249, encontrado 250(MH⁺).

25 Etapa 3: Una disolución de (3R,5S)-3,5-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina (~100 mg) en metanol (20 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (10 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado 4-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)anilina (51 mg, 9% rendimiento durante 2 etapas) como sólidos rojos. El producto se usó directamente en la etapa de reacción siguiente sin purificación adicional. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₂₁N₃) 219, encontrado 220 (MH⁺).

30 Etapa 4: Se cargó un matraz con el Intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 4-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)anilina (38 mg, 0,17 mmol), TFA (50 µl), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución acuosa saturada de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10mlx3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (51 mg, 65% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,84 (br, 1H), 9,87 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J=9,2 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,54 (d, J=11,2 Hz, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,34 (d, J=11,6 Hz, 2H), 2,24 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 1,07 (d, J=6,0 Hz, 6H); ESI-MS: calc. para (C₂₇H₂₇F₂N₇O) 503, encontrado 504 (MH⁺).

Compuesto de referencia 46



40 Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (1,80 g, 12,76 mmol) en AcN (18 ml), se le añadieron 2-metilpiperazina (3,19 g, 31,89 mmol) y DIEA (3,34 ml, 19,14 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C durante 3 h (en un tubo sellado). La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se transfirió a agua (300 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min., luego se enfrió con hielo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna (0-10% MeOH en DCM) para proporcionar el compuesto deseado de 3-metil-1-(4-nitrofenil)piperazina en la forma de sólidos amarillos (2,03 g, 72% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,01 (d, J=9,6 Hz, 2H), 6,97 (d, J =9,2 Hz, 2H),

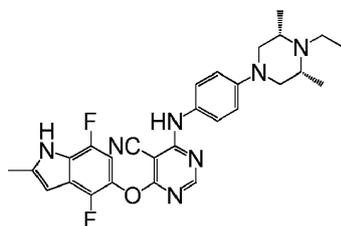
3,84 (m, 2H), 2,95-2,50 (m, 4H), 2,40 (m, 1H), 2,30 (br, 1H), 1,00 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₅N₃O₂) 221, encontrado 222 (MH⁺).

5 Etapa 2: A una disolución de 3-metil-1-(4-nitrofenil)piperazina (600 mg, 2,71 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió hidruro de sodio (60%, 130 mg g, 3,25 mmol) en porciones y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se añadió yodometano (0,20 ml g, 3,25 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y el material de partida se había consumido. La mezcla se vertió en agua fría en porciones y se extrajo con EtOAc (3x50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna (0-10% MeOH en DCM) para dar el aceite amarillo. ESI-MS: calc. para (C₁₂H₁₇N₃O₂) 235, encontrado 236(MH⁺).

10 Etapa 3: Una disolución de 4-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)nitrobenzono en metanol (~20 ml) se hidrogenó en presencia de Pd/C (25 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró al producto deseado 4-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)anilina (398 mg, 72% rendimiento en 2 etapas) como sólidos pardos. El producto se usó directamente para la reacción de la etapa siguiente sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,65 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,45 (d, J=8,0 Hz, 2H), 4,51(br, 2H), 3,17 (m, 2H), 2,74 (m, 1H), 2,57 (m,1H), 2,30-2,00 (m, 5H), 0,98 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₂H₁₉N₃) 205, encontrado 206 (MH⁺).

20 Etapa 4: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 4-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)anilina (35 mg, 0,17 mmol), TFA (50 µl), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10 mlx3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (60 mg, 79% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,88 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 2,83-2,70 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,36 (t, J=10,4 Hz, 1H), 2,30-2,05 (m, 5H), 1,03 (d, J=6,4 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

Compuesto de referencia 47



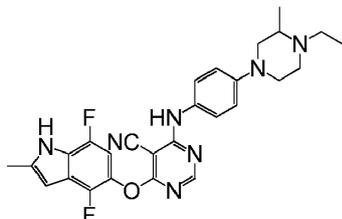
30 Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzono (3 g, 21,26 mmol) en AcN (60 ml), se le añadieron cis-2,6-dimetilpiperazina (2,55 g, 22,32 mmol) y DIEA (3,90 ml, 22,32 mmol). La mezcla se agitó y se sometió a reflujo durante 18 h. La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó para proporcionar. Se añadieron EtOAc y agua. La mezcla se extrajo con EtOAc tres veces. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se cristalizó a partir de EtOAc para dar los sólidos amarillos de conexión inversa al producto secundario (300 mg). El líquido madre se concentró hasta una cantidad mínima de disolventes y luego se añadieron hexanos para formar el precipitado amarillo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con hexanos para dar el compuesto deseado (3R,5S)-3,5-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina en la forma de sólidos de color amarillo claro (2,60 g, 52% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,02 (d, J=9,6 Hz, 2H), 7,02 (d, J =9,2 Hz, 2H), 3,90 (m, 2H), 2,78 (m, 2H), 2,40 (m, 2H), 1,03 (d, J=5,6 Hz, 6H); ESI-MS: calc. para (C₁₂H₁₇N₃O₂) 235, encontrado 236 (MH⁺).

40 Etapa 2: A una disolución de (3R,5S)-3,5-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina (650 mg, 2,76 mmol) y yodoetano (453 mg, 2,90 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió carbonato de potasio (573 mg g, 4,15 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y el material de partida se había consumido. La mezcla se vertió en agua fría y se extrajo con DCM (3x15 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna (0-10% MeOH en DCM) para dar el aceite amarillo. ESI-MS: calc. para (C₁₄H₂₁N₃O₂) 263, encontrado 264(MH⁺).

45 Etapa 3: Una disolución del nitrobenzono anteriormente preparado en metanol (~30 ml) se hidrogenó en presencia de Pd/C (50 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado 4-((3R,5S)-4-etil-3,5-dimetilpiperazin-1-il)anilina (520 mg, 81% rendimiento en 2 etapas) como sólidos pardos. El producto se usó directamente en la etapa de reacción siguiente sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,65 (d, J=7,2 Hz, 2H), 6,47 (d, J =7,6 Hz, 2H), 4,52 (br, 2H), 3,20 (d, J=10,8 Hz, 2H), 2,81 (q, J=7,2 Hz, 2H), 2,66 (m, 2H), 2,18(t, J=10,4 Hz, 2H), 1,00 (d, J=6,4 Hz, 6H), 0,85 (t, J=7,2 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₄H₂₃N₃) 233, encontrado 234 (MH⁺).

Etapa 4: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 4-((3R,5S)-4-etil-3,5-dimetilpiperazin-1-il)anilina (40 mg, 0,17 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10mlx3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (65 mg, 80% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,84 (br, 1H), 9,87 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,54 (d, J=11,6 Hz, 2H), 2,85 (q, J=7,2 Hz, 2H), 2,67 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,33 (t, J=10,8 Hz, 2H), 1,05 (d, J=6,0 Hz, 6H), 0,86 (t, J=7,2 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₈H₂₉F₂N₇O) 517, encontrado 518 (MH⁺).

10 Compuesto de referencia 48



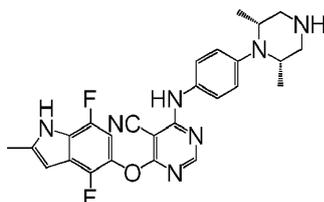
Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (1,80 g, 12,76 mmol) en AcN (18 ml) se le añadieron 2-metilpiperazina (3,19 g, 31,89 mmol) y DIEA (3,34 ml, 19,14 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C durante 3 h (en un tubo sellado). La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se transfirió a agua (300 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se enfrió con hielo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna (0-10% MeOH en DCM) para proporcionar el compuesto deseado de 3-metil-1-(4-nitrofenil)piperazina en la forma de sólidos amarillos (2,03 g, 72% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,01 (d, J=9,6 Hz, 2H), 6,97 (d, J =9,2 Hz, 2H), 3,84 (m, 2H), 2,95-2,50 (m, 4H), 2,40 (m, 1H), 2,30 (br, 1H), 1,00 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₅N₃O₂) 221, encontrado 222 (MH⁺).

Etapa 2: A una disolución de 3-metil-1-(4-nitrofenil)piperazina (610 mg, 2,76 mmol) y yodoetano (452 mg, 2,89 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió carbonato de potasio (572 mg g, 4,14 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se verificó la TLC y el material de partida se había consumido. La mezcla se vertió en agua fría y se extrajo con DCM (3x15 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna (0-10% MeOH en DCM) para dar 1-etil-2-metil-4-(4-nitrofenil)piperazina en la forma de un aceite amarillo. ESI-MS: calc. para (C₁₃H₁₉N₃O₂) 249, encontrado 250(MH⁺).

Etapa 3: Una disolución de 1-etil-2-metil-4-(4-nitrofenil)piperazina en metanol (~30 ml) se hidrogenó en presencia de Pd/C (50 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado (560 mg, 92% rendimiento durante 2 etapas) en la forma de un aceite pardo. El producto se usó directamente sin purificación adicional en la reacción de la etapa siguiente. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,66 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,48 (d, J =8,0 Hz, 2H), 4,53(br, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,85-2,70 (m, 2H), 2,60 (m,1H), 2,48-2,20 (m, 4H), 1,00 (d, J=6,0 Hz, 3H), 0,97 (t, J=7,2Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₃H₂₁N₃) 219, encontrado 220(MH⁺).

Etapa 4: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), amina (38 mg, 0,17 mmol), TFA (50 μ l), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (63 mg, 80% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,88 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,44 (m, 2H), 3,00-2,70 (m, 3H), 2,50-2,20 (m, 7H), 1,05 (d, J=5,2 Hz, 3H), 0,98 (t, J=7,2 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₇H₂₇F₂N₇O) 503, encontrado 504 (MH⁺).

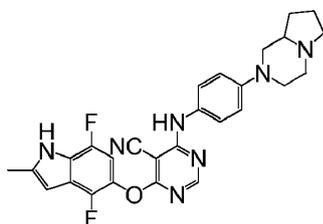
Compuesto de referencia 49



Etapa 1: Una disolución de (2S,6R)-2,6-dimetil-1-(4-nitrofenil)piperazina (290 mg, 1,23 mmol) en metanol (~20 ml) se hidrogenó en presencia de Pd/C (28 mg) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado (265 mg, 100% rendimiento) en la forma de sólidos púrpura. El producto se usó directamente en la reacción de la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,72 (d, J=7,2 Hz, 2H), 6,50 (d, J=7,2 Hz, 2H), 4,60 (br, 2H), 3,50-3,20 (m, 6H), 2,55 (m, 1H), 1,26 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₂H₁₉N₃) 205, encontrado 206(MH⁺).

Etapa 2: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), 4-((2S,6R)-2,6-dimetilpiperazin-1-il)anilina (35 mg, 0,17 mmol), TFA (50 μl), isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con una disolución de fosfato de potasio saturada acuosa y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (50 mg, 65% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,87 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,51 (d, J=9,6 Hz, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (t, J=10,8 Hz, 2H), 1,02 (d, J=6,0 Hz, 6H), (NH, ausente); ESI-MS: calc. para (C₂₆H₂₅F₂N₇O) 489, encontrado 490 (MH⁺).

Compuesto de referencia 50

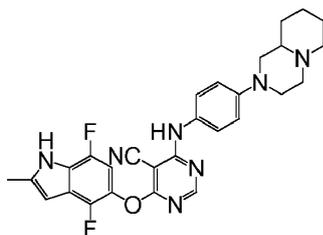


Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzoceno (0,61 ml, 5,71 mmol) en AcN (6 ml), se le añadieron Octahidropirrol[1,2-a]pirazina (600 mg, 4,75 mmol) y DIEA (1,2 ml, 7,13 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C durante la noche (en un tubo sellado). La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (0-5% MeOH en DCM) para dar el compuesto deseado en la forma de un aceite amarillo (1,09 g, 92% rendimiento). ESI-MS: calc. para (C₁₃H₁₇N₃O₂) 247, encontrado 248 (MH⁺).

Etapa 2: Una disolución del nitrobenzoceno anteriormente preparado (1,09 g, 4,41 mmol) en metanol (30 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (0,08 g) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado (0,93 g, 4,28 mmol, 92%) en la forma de sólidos rojos. El producto se usó directamente para la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,69 (d, J=6,8 Hz, 2H), 6,47 (d, J=6,8 Hz, 2H), 4,53 (br, 2H), 3,41 (d, J=10,8 Hz, 1H), 3,27 (d, J=10,8 Hz, 1H), 2,98 (m, 2H), 2,58 (t, J=10,8 Hz, 1H), 2,30-2,00 (m, 4H), 1,85-1,65 (m, 3H), 1,32 (m, 1H); ESI-MS: calc. para (C₁₃H₁₉N₃) 217, encontrado 218 (MH⁺).

Etapa 3: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), anilina (39 mg, 0,18 mmol), TFA (25 μl), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con una disolución saturada acuosa de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (56 mg, 72% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,88 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,93 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,34 (s, 1H), 3,76 (d, J=10,8 Hz, 1H), 3,62 (d, J=11,6 Hz, 1H), 3,03 (m, 2H), 2,73 (t, J=11,6 Hz, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,40-2,30 (m, 1H), 2,22 (t, J=8,0 Hz, 1H), 2,12-2,08 (m, 2H), 1,90-1,60 (m, 3H), 1,42-1,32 (m, 1H); ESI-MS: calc. para (C₂₇H₂₅F₂N₇O) 501, encontrado 502(MH⁺).

Compuesto de referencia 51

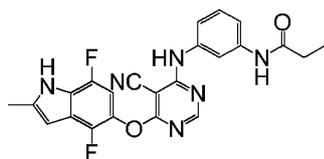


Etapa 1: A una disolución de 4-fluoronitrobenzono (0,55ml, 5,13 mmol) en AcN (6 ml), se le añadieron Octahidro-1H-pirido[1,2-a]pirazina (600 mg, 4,28 mmol) y DIEA (1,1 ml, 6,42 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C durante la noche (en un tubo sellado). La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (0-5% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de un aceite amarillo (1,03 g, 92% rendimiento). ESI-MS: calc. para (C₁₄H₁₉N₃O₂) 261, encontrado 262 (MH⁺).

Etapa 2: Una disolución del nitrobenzono anterior (1,03 g, 3,94 mmol) en metanol (30 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (0,08 g) usando un globo de H₂. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se enjuagó con metanol (3 x 15 ml). El filtrado se concentró para dar el producto deseado (0,89 g, 7,85 mmol, 92%) como sólidos rojos. El producto se usó directamente en la reacción de la etapa siguiente sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,65 (d, J=6,8 Hz, 2H), 6,47 (d, J =6,8 Hz, 2H), 4,52(br, 2H), 3,23 (d, J=10,8 Hz, 1H), 3,16 (d, J=10,8 Hz, 1H), 2,72 (m, 2H), 2,56 (t, J=11,2 Hz, 1H), 2,19 (m, 2H), 1,93 (t, J=10,8 Hz, 2H), 1,75-1,35 (m, 4H), 1,30-1,00 (m, 2H); ESI-MS: calc. para (C₁₄H₂₁N₃) 231, encontrado 232 (MH⁺).

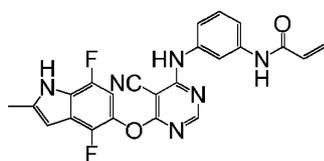
Etapa 3: Se cargó un matraz con el intermedio 2 (50 mg, 0,16 mmol), la anilina preparada anteriormente (42 mg, 0,18 mmol), TFA (25 µl), isopropanol (3 ml). La reacción se calentó hasta 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se convirtió a una base con disolución saturada acuosa de fosfato de potasio y luego se extrajo con DCM/ (10 ml x 3). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía rápida (0-10% MeOH-en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (62 mg, 77% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,83 (br, 1H), 9,87 (br, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,00 (dd, J=5,6 Hz, J = 10,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J=7,6 Hz, 2H), 6,33 (s, 1H), 3,70-3,40 (m, 2H), 2,90-2,60 (m, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,40-2,10 (m, 2H), 2,00-1,90 (m, 2H), 1,80-1,10 (m, 5H); ESI-MS: calc. para (C₂₈H₂₇F₂N₇O) 515, encontrado 516(MH⁺).

Compuesto de referencia 52



Una mezcla de QW823 (bruto, 70 mg, 0,22 mmol), N-(3-Aminofenil)propanamida (43 mg, 0,26 mmol) y DIPEA (0,08 ml, 0,44 mmol) en DMSO (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. Se añadió acetato de etilo (15 ml) seguido de NH₄Cl (20 ml). Después de la separación, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (15 mlx1). La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó por columna sobre gel de sílice (0-10% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (57 mg, 58% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,84 (br, 1H), 10,10 (br, 1H), 9,91 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,37 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,27 (t, J=8,0 Hz, 1H), 7,18 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,00 (dd, J =5,2 Hz, J=10,4 Hz, 1H), 6,34 (s, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,32 (q, J=7,6 Hz, 2H), 1,08 (t, J=7,6 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₃H₁₈F₂N₆O₂) 448, encontrado 449 (MH⁺).

Compuesto 53



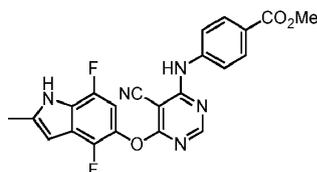
Etapa 1: A una disolución de 3-nitroanilina (5,00 g, 36,2 mmol) en THF seco (50 ml) se le añadió TEA (7,50 ml, 54,3 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 10 min seguida de adición gota a gota de cloruro de acrilóilo (7,38 ml, 90,50 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó luego a TA durante 4 h. La mezcla resultante se inactivó con bicarbonato de sodio y se extrajo con EtOAc tres veces. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El producto bruto se cristalizó a partir de EtOAc/Hexanos para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (3,37 g, 48% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,65 (br, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,00-7,90 (m, 2H), 7,63 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 6,50-6,30 (m, 2H), 5,84(d, J=10,0 Hz, 1H); ESI-MS: calc. para (C₉H₈N₂O₃) 192, encontrado 193(MH⁺).

Etapa 2: A una disolución de N-(3-nitrofenil)acrilamida (2,06 g, 10,72 mmol) en una mezcla de MeOH (40 ml) y THF (40 ml) se le añadió dihidrato de cloruro de estaño (II) (12,09 g, 53,60 mmol). La mezcla se agitó a TA durante la noche y luego se concentró. El residuo se trató con Na₂CO₃ saturado acuoso hasta pH=10-11. La mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. El residuo se usó directamente en la reacción de la etapa siguiente sin purificación adicional. (aceite amarillo, 1,49 g, 85% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,81 (br, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,95 (t, J=9,2 Hz,

1H), 6,76 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,41 (m, 1H), 6,30-6,10 (m, 2H), 5,6(d, J=10,4 Hz, 1H), 5,07 (br, 2H); ESI-MS: calc. para (C₉H₁₀N₂O) 162, encontrado 163(MH⁺).

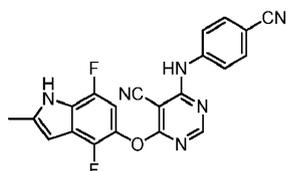
5 Etapa 3: Una mezcla del intermedio 2 (bruto, 70 mg, 0,22 mmol), anilina (43 mg, 0,26 mmol) y DIPEA (0,08 ml, 0,44 mmol) en DMSO (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se verificó la TLC y la reacción se había completado. Se añadió acetato de etilo (15 ml), seguido de NH₄Cl (20 ml). Después de la separación, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (15 ml x 1). La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó por columna sobre gel de sílice (0-10% MeOH en DCM) para dar el producto deseado en la forma de sólidos amarillos (50 mg, 51% rendimiento).¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,84 (br, 1H), 10,20 (br, 1H), 10,14 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,46 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,31 (t, J=8,0 Hz, 1H), 7,23 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,00 (dd, J = 5,2 Hz, J=10,4 Hz, 1H), 6,46 (dd, J=10,0 Hz, J=17,2 Hz, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,26 (d, J=16,8 Hz, 1H), 5,76 (d, J=10,0 Hz, 1H), 2,42 (s, 3H); ESI-MS: calc. para (C₂₃H₁₆F₂N₆O₂) 446, encontrado 447 (MH⁺).

Compuesto de referencia 54



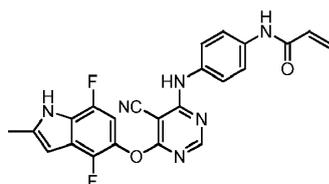
15 Una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,31 mmol), 4-aminobenzoato de metilo (47 mg, 0,34 mmol), Pd(OAc)₂ (10 mg, 0,045 mmol), xantfos (45 mg, 0,078 mmol), K₂CO₃ (150 mg, 1,09 mmol) y dioxano anhidro (12 ml) se selló en un tubo de microondas y se desgaseó con argón durante 10 min. La mezcla luego se calentó hasta 120 °C durante 20 min bajo irradiación de microondas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (68 mg, 50% rendimiento).¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,39 (br s, 1H), 8,38-8,37 (m, 1H), 7,95-7,93 (m, 2H), 7,75-7,73 (m, 2H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (s, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₂H₁₅F₂N₅O₃: 435, encontrado: 436 (MH⁺).

Compuesto de referencia 55



25 Una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (100 mg, 0,31 mmol), 4-aminobenzonitrilo (40 mg, 0,34 mmol), Pd(OAc)₂ (10 mg, 0,045 mmol), xantfos (45 mg, 0,078 mmol), K₂CO₃ (150 mg, 1,09 mmol) y dioxano anhidro (12 ml) se selló en un tubo de microondas y se desgaseó con argón durante 10 min. La mezcla se calentó luego hasta 120 °C durante 20 min bajo irradiación de microondas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanco (58 mg, 45% rendimiento).¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,85 (br s, 1H), 10,48 (br s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,81-7,77 (m, 4H), 7,04-7,00 (m, 1H), 6,35 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₁H₁₂F₂N₆O: 402, encontrado: 403 (MH⁺).

Compuesto 56



40 Etapa 1: A una mezcla de 4-nitroanilina (3,0 g, 22 mmol) y TEA (9,2 ml, 66 mmol) en THF (100 ml) se le añadió cloruro de acrililo (1,9 ml; 24 mmol), y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 17 h. Luego se añadieron más TEA (9,2 ml, 66 mmol) y cloruro de acrililo (1,9 ml; 24 mmol) y la mezcla se agitó durante otras 2 h. La mezcla se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación

NaHCO₃), y la capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para proporcionar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (1,9 g, 45% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,76 (br s, 1H), 8,25-8,23 (m, 2H), 7,93-7,91 (m, 2H), 6,51-6,44 (m, 1H), 6,37-6,32 (m, 1H), 5,88-5,85 (m, 1H); MS (ESI): calc. para C₉H₈N₂O₃: 192, encontrado: 193 (MH⁺).

5

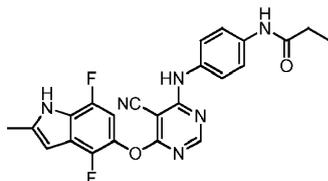
Etapa 2: A una suspensión de N-(4-nitrofenil)acrilamida (800 mg, 4,16 mmol) en 5:1 EtOH/agua (21 ml) se le añadió polvo de hierro (469 mg, 8,40 mmol) y NH₄Cl saturado, acuoso (2,1 ml), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 3 h. Luego se añadió más polvo de hierro (500 mg, 8,95 mmol) y se añadió polvo de NH₄Cl (700 mg, 13,1 mmol) y la mezcla se agitó durante otras 17 h. La mezcla se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (100 ml cada vez), y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0,5-15% MeOH en DCM (v/v) para proporcionar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (216 mg, 32% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,71 (br s, 1H), 7,30 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,51 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,40-6,33 (m, 1H), 6,18-6,13 (m, 1H), 5,66-5,63 (m, 1H); MS (ESI): calc. para C₉H₁₀N₂O: 162, encontrado: 163 (MH⁺).

10

Etapa 3: A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (230 mg, 0,71 mmol) y N-(4-aminofenil)acrilamida (120 mg, 1,0 mmol) en DMSO anhidro (5,0 ml) se le añadió DIPEA (0,43 ml; 2,5 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante 20 h. La mezcla resultante se diluyó con 1:9 MeOH/EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (aprox. 100 ml; 50% saturación NH₄Cl) luego salmuera (100 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (219 mg, 69% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (br s, 1H), 10,18 (br s, 1H), 10,04 (br s, 1H), 8,29 (d, J = 0,4 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,46 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,47-6,41 (m, 1H), 6,34-6,24 (m, 2H), 5,77-5,74 (m, 1H), 2,42 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₃H₁₆F₂N₆O₂: 446, encontrado: 447 (MH⁺).

20

25 Compuesto de referencia 57



Etapa 1: A una disolución de N-(4-nitrofenil)propionamida (1,00 g, 5,15 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió 10% Pd/C (100 mg), y la mezcla resultante se agitó en H₂ (1 atm) durante 21 h. La mezcla luego se filtró sobre Celite y se concentró para dar el producto deseado en la forma de un aceite anaranjado (858 mg, aprox. 100% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,39 (br s, 1H), 7,20 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,48 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,79 (br s, 2H), 2,22 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

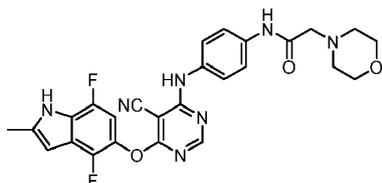
30

Etapa 2: A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y N-(4-aminofenil)propionamida (69 mg, 0,42 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió TEA (0,10 ml; 0,75 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante 20 h. La mezcla resultante se diluyó con 1:9 MeOH/EtOAc (100 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (aprox. 10 ml; 50% saturación NH₄Cl) luego salmuera (10 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (69 mg, 62% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,83 (br s, 1H), 10,00 (br s, 1H), 9,89 (br s, 1H), 8,27 (d, J = 0,4 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,32 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,09 (t, J = 7,6 Hz, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₃H₁₈F₂N₆O₂: 448, encontrado: 449 (MH⁺).

35

40

Compuesto de referencia 58



Etapa 1: A una mezcla de 4-nitroanilina (5,0 g, 36 mmol) y TEA (5,0 ml, 36 mmol) en THF (100 ml) agitada a 0 °C se le añadió cloruro de 2-cloroacetilo (1,9 ml; 24 mmol), y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 17 h. La mezcla se repartió entre 1:9 MeOH/EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 100 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃), y la capa orgánica se lavó con salmuera ac. (aprox. 100 ml; 50% saturación), se separó, se

45

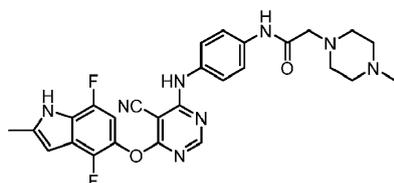
secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, tras lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc para dar el producto deseado 2-cloro-N-(4-nitrofenil)acetamida en la forma de un sólido amarillo (6,17 g, 80% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,90 (br s, 1H), 8,25 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,84 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 4,34 (s, 2H); MS (ESI): calc. para C₈H₇ClN₂O₃: 214, encontrado: señal débil.

5 Etapa 2: Una mezcla de 2-cloro-N-(4-nitrofenil)acetamida (500 mg, 2,33 mmol) y morfolina (2,0 ml, 23 mmol) en isopropanol (aprox. 5 ml) se agitó a 80 °C durante aprox. 17h. La mezcla se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 10 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃), y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (323 mg, 52% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,36 (br s, 1H), 8,24-8,21 (m, 2H), 7,92-7,89 (m, 2H), 3,63 (d, J = 3,2 Hz, 4H), 3,31 (br s, 4H), 3,21 (s, 2H); MS (ESI): calc. para C₁₂H₁₅N₃O₄: 265, encontrado: 266 (MH⁺).

15 Etapa 3: A una disolución de 2-morfolino-N-(4-nitrofenil)acetamida (320 mg, 1,21 mmol) en MeOH (70 ml) se le añadió 10% Pd/C (80 mg), y la mezcla resultante se agitó en H₂ (1 atm) durante 23 h. La mezcla luego se filtró sobre Celite y se concentró para proporcionar el producto deseado en la forma de un aceite anaranjado (314 mg, aprox. 100% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,28 (br s, 1H), 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,50 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,86 (br s, 2H), 3,64-3,62 (m, 4H), 3,04 (s, 2H), 2,51-2,47 (m, 4H); MS (ESI): calc. para C₁₂H₁₇N₃O₂: 235, encontrado: 236 (MH⁺).

20 Etapa 4: A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y N-(4-aminofenil)-2-morfolinoacetamida (68 mg, 0,29 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió DIPEA (0,15 ml; 0,87 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante 1,5 días. La mezcla resultante se diluyó con 1:9 MeOH/EtOAc (10 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (aprox. 10 ml; 50% saturación NH₄Cl) luego salmuera (10 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (142 mg, aprox. 100% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (s, 1H), 10,03 (s, 1H), 9,77 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,63-7,61 (m, 2H), 7,44 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,34 (br s, 1H), 3,65-3,63 (m, 4H), 2,54-2,52 (m, 4H; oscurecido por señal de DMSO), 2,41 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₆H₂₃F₂N₇O₃: 519, encontrado: 520 (MH⁺).

Compuesto de referencia 59

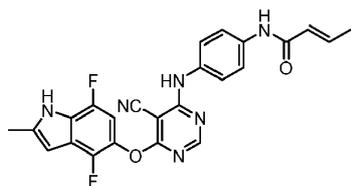


30 Etapa 1: Una mezcla de 2-cloro-N-(4-nitrofenil)acetamida (500 mg, 2,33 mmol) y N-metilpiperazina (2,6 ml, 23 mmol) en isopropanol (aprox. 5 ml) se agitó a 80 °C durante aprox. 17h. La mezcla se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ ac. (aprox. 10 ml cada vez; 50% saturación NaHCO₃), y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro para dar el producto deseado en la forma de un sólido amarillo (513 mg, 79% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,32 (br s, 1H), 8,23-8,21 (m, 2H), 7,91-7,89 (m, 2H), 3,31 (s, 2H), 2,51 (br s, 4H), 2,33 (br s, 4H), 2,17 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₁₃H₁₈N₄O₃: 278, encontrado: 279 (MH⁺).

35 Etapa 2: A una disolución de 2-(4-metilpiperazin-1-il)-N-(4-nitrofenil)acetamida (500 mg, 1,80 mmol) en MeOH (70 ml) se le añadió 10% Pd/C (75 mg), y la mezcla resultante se agitó en H₂ (1 atm) durante 19 h. La mezcla luego se filtró sobre Celite y se concentró para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (456 mg, aprox. 100% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,21 (br s, 1H), 7,22 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,49 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,86 (br s, 2H), 3,01 (s, 2H), 2,50 (br s, 4H), 2,36 (br s, 4H), 2,16 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₁₃H₂₀N₄O: 248, encontrado: 249 (MH⁺).

40 Etapa 3: A una mezcla de 4-cloro-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (80 mg, 0,25 mmol) y N-(4-aminofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetamida (71 mg, 0,29 mmol) en DMSO anhidro (1,5 ml) se le añadió DIPEA (0,15 ml; 0,87 mmol), y la mezcla bifásica resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con 1:9 MeOH/EtOAc (10 ml) y se lavó con NH₄Cl ac. (aprox. 10 ml; 50% saturación NH₄Cl), luego salmuera (10 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando 0-20% MeOH en DCM (v/v) para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (54 mg, 41% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (s, 1H), 10,03 (s, 1H), 9,71 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,63-7,60 (m, 2H), 7,45-7,42 (m, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,35 (br s, 1H), 2,55-2,52 (m, 4H; oscurecido por señal DMSO), 2,41 (s, 3H), 2,40-2,37 (m, 4H), 2,17 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₇H₂₆F₂N₈O₂: 532, encontrado: 533 (MH⁺).

50 Compuesto de referencia 60

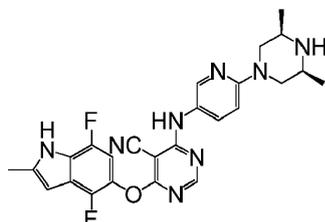


A una mezcla de 4-((4-aminofenil)amino)-6-((4,7-difluoro-2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidina-5-carbonitrilo (64 mg, 0,16 mmol) y piridina (39 mg, 0,49 mmol) en DCM (3,0 ml) se le añadió cloruro de cromoilo (51 mg, 0,49 mmol). La mezcla resultante se agitó en forma eficiente a temperatura ambiente durante 1 h, tras lo cual se tornó homogénea.

5 La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (aprox. 10 ml; 50% saturación NaHCO₃). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar el producto deseado en la forma de un sólido blanquecino (51 mg, 68% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,84 (br s, 1H), 10,03 (s, 1H), 9,82 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,68-7,65 (m, 2H), 7,46-7,43 (m, 2H), 7,03-6,99 (m, 1H), 6,34 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 5,80 (s, 1H), 5,52 (s, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,96 (s, 3H); MS (ESI): calc. para C₂₇H₂₆F₂N₈O₂: 532, encontrado: 533 (MH⁺).

10

Compuesto 61



Etapa 1: A una disolución de 2-cloro-5-nitropiridina (10,00g, 63,07 mmol) y Cis-2,6-dimetilpiperazina (9,00 g, 78,84 mmol) en DMSO (50 ml) se le añadió carbonato de potasio (10,90 g, 78,84 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 18 h. La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió a un matraz que contenía agua/salmuera (600 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. y luego se enfrió a 0 °C. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (100 ml x 3). Los sólidos se trituraron con hexano, se recogieron por filtración y se secaron adicionalmente en una línea de vacío para dar el producto en la forma de sólidos amarillos (13,82 g, 92% rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,93 (d, J=2,8 Hz, 1H), 8,17 (dd, J =2,8 Hz, J=9,6 Hz, 1H), 6,94 (d, J=9,6 Hz, 1H), 4,40 (br, 2H), 2,69 (m, 2H), 2,49-2,30 (m, 3H), 1,02 (d, J=6,4 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₆N₄O₂) 236, encontrado 237 (MH⁺).

15

20

Etapa 2: Una disolución de QW910 (13,72 g, 58,07 mmol) en metanol (350 ml) se hidrogenó en presencia de 10% Pd/C (0,60 g) usando un globo de H₂ (3x). Después de 48 h, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se enjuagó con metanol (250 ml). El filtrado se concentró para proporcionar el producto deseado (12,00 g, 100% rendimiento) en la forma de sólidos púrpura. El producto se usó directamente en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,58 (d, J=2,8 Hz, 1H), 6,88 (dd, J =8,8 Hz, J=2,8 Hz, 1H), 6,58 (d, J=8,8 Hz, 1H), 4,50 (br, 2H), 3,80 (m, 2H), 2,75 (m, 2H), 2,02 (m, 3H), 0,98 (d, J=6,0 Hz, 3H); ESI-MS: calc. para (C₁₁H₁₈N₄) 206, encontrado 207 (MH⁺).

25

Etapa 3: A una disolución de anilina preparada en la etapa 2 (141 mg, 0,68 mmol) en isopropanol (3 ml) se le añadió TFA (50 µl) y se agitó vigorosamente. Se añadió una disolución del intermedio 2 (200 mg, 0,62 mmol en isopropanol (5 ml). La reacción se calentó hasta 85°C durante 16h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron hexanos (~8 ml), se enfrió con hielo y se filtró para dar sólidos púrpura. Los sólidos se suspendieron en agua (50 ml)/MeOH (5ml) y se añadió NaHCO₃ sat. (~20ml) (pH >8). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 min., luego se enfrió con hielo. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (~5 ml) y hexanos (10 ml). El producto se obtuvo como sólidos púrpura (263 mg, 86%). La HPLC fue de 95% y no se efectuó purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,85 (br, 1H), 9,93 (br, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,17 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,62 (dd, J=2,4 Hz, J =9,2 Hz, 1H), 7,00 (dd, J=5,2 Hz, J =10,4 Hz, 1H), 6,87 (d, J=9,2 Hz, 1H), 6,34 (s, 1H), 4,22 (d, J=12 Hz, 2H), 2,90 (br, 2H), 2,46-2,00 (m, 6H), 1,11 (d=6,4 Hz, 6H); ESI-MS: calc. para (C₂₅H₂₄F₂N₈O) 490, encontrado 491 (MH⁺).

30

35

40 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se dan a conocer para ilustrar más la presente invención pero, desde ya, no deben interpretarse en modo alguno como limitativos de su alcance.

Ejemplo 1

Este ejemplo ensaya los compuestos ilustrativos del Compuesto 1 al Compuesto 61 anteriormente descritos para actividad inhibitoria de cinasa. Un número importante de estos compuestos tienen actividad inhibitoria de cinasa colectivamente, en un amplio espectro de cinasas.

- 5 Se usaron los protocolos de ensayo de cinasa conocidos en la técnica. Concretamente, la composición tampón fue la siguiente: MOPS 20 mM, EDTA 1 mM, 0,01% Brij-35, 5% Glicerol, 0,1% β-mercaptoetanol, 1 mg/ml BSA. Los compuestos de ensayo se disolvieron inicialmente en DMSO a la concentración deseada, luego se diluyeron en serie en el tampón de ensayo de cinasa. En un volumen de reacción final de 25 µl se incuban FGFR1(h) (5-10 mU) y KDR(h) (5-10 mU) con MOPS 8 mM pH 7,0, EDTA 0,2 mM, 200 µM LRRASLG (Kemptide), acetato de magnesio 10 mM y [³³P-ATP]. La reacción se inició por adición de la mezcla de MgATP. Después de la incubación durante 40 minutos a temperatura ambiente, la reacción cesó por adición de 5 µl de una disolución al 3% de ácido fosfórico. Se mancharon diez µl de la reacción en un filtermat P30 y se lavó tres veces durante 5 minutos en ácido fosfórico 50 mM y una vez en metanol antes del secado y el recuento de centelleos. Los pocillos que contenían el sustrato pero no cinasa y los pocillos que contenían un control de fosfopéptido se usaron para fijar el valor de fosforilación en 0% y 100%, respectivamente.
- 10
- 15 La Tabla 1 expone datos representativos de la inhibición de cinasa por los compuestos de la presente invención. FGFR1 y KDR cinasas serían reconocidas por los expertos en la técnica como asociadas con cáncer.

Tabla 1. Inhibición de la actividad de cinasa en dos cinasas asociadas con cáncer.

Ejemplo núm.	% Inhibición a 1 µM	
	FGFR1(h)	KDR(h)
1	99	96
2	100	96
3	1	4
4	-	-
5	26	9
6	85	95
7	49	94
8	97	96
9	100	96
10	34	23
11	100	96
12	56	67
13	48	85
14	99	93
15	94	96
16	100	96

ES 2 746 007 T3

Ejemplo núm.	% Inhibición a 1 μ M	
	FGFR1(h)	KDR(h)
17	100	96
18	76	92
19	100	86
20	70	42
21	100	96
22	100	96
23	98	96
24	86	95
25	99	96
26	97	96
27	99	97
28	99	96
29	91	95
30	91	94
31	102	95
32	92	69
33	101	89
34	100	89
35	100	95
36	99	67
37	99	70
38	90	73
39	91	36
40	78	20
41	101	96

Ejemplo núm.	% Inhibición a 1 μ M	
	FGFR1(h)	KDR(h)
42	101	96
43	97	76
44	41	14
45	101	73
46	101	90
47	101	74
48	100	84
49	101	82
50	101	88
51	101	80
52	101	91
53	100	93
54	89	17
55	55	6
56	101	94

Ejemplo 2

Se efectuó una serie de estudios para analizar las consecuencias de la inhibición de tirosina cinasa en líneas celulares. Para esto, se siembran 1000 células en 27 μ l/pocillo de microplacas con 384 pocillos, que luego se disponen en una incubadora de CO₂ humidificada a 37 C durante la noche. Al día siguiente, se añaden 3 μ l/pocillo de fármaco concentrado 10X y las placas se retornan a la incubadora durante 72 h. Después de 72 h de incubación, las placas se retiran y se añaden 6 μ l/pocillo de reactivo de viabilidad CellTiterblue (Promega). Las placas se retornan a la incubadora durante 3 horas, después de lo cual se leen las mediciones de fluorescencia en la lectora de placas Victor X3 (Perkin Elmer). Los datos se analizan usando Excel (Microsoft), y se determinan los valores GI₅₀ usando Prism (Graphpad).

Para fosfo-FGFR, se usó el siguiente protocolo de ensayo. Se siembran 25.000 células en 90 μ l/pocillo de microplacas de 96 pocillos, que luego se disponen en una incubadora de CO₂ humidificada a 37 C durante la noche. Se recubren placas ELISA de 96 pocillos (Mesoscale Discovery) con anticuerpo de captura (R&D Systems Duo-Set) a 4 μ g/ml, 30 μ l/pocillo. Al día siguiente, se añaden 10 μ l/pocillo de fármaco concentrado 10X y las placas se retornan a la incubadora por 20 min. Las placas ELISA se lavan usando una lavadora de placas automática (BioTek Instruments). Después de 30 min, las células se invierten y se golpean suavemente para eliminar el exceso de medio, y se disponen de inmediato en hielo. Se añade 30 l de reactivo de lisis celular mPer (Thermo Scientific) con inhibidores de proteasa y fosfatasa a cada pocillo. Después de 15 min en hielo, los lisados se mezclan y se transfieren 30 μ l a la placa de ELISA. Las placas se incuban durante 2 horas, se lavan y se añaden 30 μ l/pocillo de anticuerpo de detección. Después de 1 hora, las placas se lavan y se añaden 30 μ l de reactivo de detección "SulfoTag" (MesoScale Discovery). Después de 1 hora, las placas se lavan y se añaden 150 μ l/pocillo de disolución de lectura. Se determina la electroquimioluminiscencia en el dispositivo Mesoscale Discovery Sector Imager 2000. Los datos se analizan usando Excel (Microsoft), y se determinan los valores CE₅₀ usando Prism (Graphpad).

5 La Tabla 2 muestra datos GI50 representativos para la inhibición de líneas celulares de cáncer seleccionadas. Los expertos en la técnica apreciarán que cada línea celular es un sustituto de una clase de cáncer particular. Este ejemplo confirma que los inhibidores de proteína cinasa pueden tener efectos sobre la proliferación celular. Los expertos en la técnica se sorprenderían con la especificidad de la inhibición de cinasa. Todos los inhibidores de cinasa ensayados en este documento se han asociado con cáncer.

Tabla 2. Inhibición de proliferación

Compuesto núm.	GI50 (nM)			
	KG1a	SNU16	Kato III	RT112
1	49	-	-	-
2	62	-	-	-
8	250	-	-	-
9	314	-	-	-
11	25	-	-	-
14	1,6	23	137	76
16	15	-	-	-
17	0,74	20	113	83
19	0,2	12	79	66
22	196	-	-	-
25	30	-	-	-
28	226	-	-	-
31	0,35	32	205	171
33	0,28	12	88	126
34	0,28	22	98	52
35	78	-	-	-
36	182	-	-	-
41	180	-	-	-
42	35	-	-	-
45	0,43	15	79	37
46	1,37	22	111	48
47	0,5	22	123	48

Compuesto núm.	GI50 (nM)			
	KG1a	SNU16	Kato III	RT112
48	0,55	35	152	57
49	0,6	24	86	48
50	2,91	52	174	49
51	1,62	66	208	73
52	174	-	-	
53	3,59	28	152	94
56	5,59	24	106	134
57	15	6	-	-
58	101	122	-	-
59	31	79	-	-
60	101	92	-	-
61	4	75	-	-

Ejemplo 3

5 En este Ejemplo, la actividad antitumoral de los compuestos 14, 17, 19, 45 y 48 de la presente invención se ensaya usando un modelo de xenoinjerto reconocido en la técnica de AML. ("T/C" se refiere a la relación del tamaño del tumor en animales tratados frente al tamaño del tumor en animales no tratados control. "BWC" se refiere a un "cambio de peso corporal").

Tabla 3. Eficacia antitumoral de compuestos iniciales en un xenoinjerto TG1a AML humano

Grupo	Núm.	Compuesto ID	Dosis (mg/kg)	Esquema de administración	Ruta	T/C (%) (día 14)	BWC (%)
A	4	Vehículo	/	Qdx10	IP	/	-7,2
B	4	Comp. 19	5	Qdx10	IP	-69,7	-4,1
C	4	Comp. 19	10	Qdx10	IP	-83,7	-6,3
D	4	Comp. 19	20	Qdx10	IP	-68,7 (día 7)	-26,2(d7)
E	4	Comp. 14	20	Qdx10	IP	-60,6	-4,0
F	4	Comp. 17	20	Qdx10	IP	-79,5	-5,7
G	4	Comp. 45	20	Qdx10	IP	4,9	-11,7
H	4	Comp. 48	20	Qdx10	IP	-72,8	-3,8

"Qdx10", una vez al día durante 10 días

Ejemplo 4

Este Ejemplo demuestra la actividad biológica y la adecuación farmacéutica de una realización de la invención, el Compuesto 19. Este ejemplo se ofrece como ilustrativo de las características de los compuestos inventivos descritos por la presente solicitud. No obstante, este ejemplo no es en absoluto limitativo del alcance de protección obtenido.

En todas las etapas del desarrollo de un fármaco, lo más difícil es hallar compuestos promisorios (ver, p. ej., Malo et al., "Statistical practice in high-throughput screening data analysis", Nature Biotechnology, 2006, 24, 167-75.) Los inhibidores de cinasa a menudo tienen también un efecto antiproliferativo. Esta atracción característica de inhibidores de cinasa, como los compuestos del Ejemplo 2, es su capacidad de inhibir formas mutantes de la cinasa que se ha demostrado que son importantes en la transformación de células normales en células cancerosas. La actividad inhibidora de cinasas del Compuesto 19 se ensayó usando el ensayo de cinasas descrito en el Ejemplo 3. Las Tablas 4 y 5 demuestran la actividad inhibidora de cinasas del Compuesto 19. De forma impredecible, el Compuesto 19 es muy activo contra formas mutantes y de tipo salvaje de los receptores de cinasas de los factores de crecimiento de fibroblastos. Se cree que estas mutaciones en las cinasas ensayadas cumplen una función importante en la transformación de algunos tipos de cáncer. Además, la Tabla 4 también demuestra que el Compuesto 19 es razonablemente selectivo para cinasas de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos.

Tabla 4. PHD

Cinasa	CI50 (nM)
FGFR1 (h)	0,9
FGFR1(V561M)(h)	134
FGFR2(h)	11
FGFR2(N549H)(h)	7
FGFR3(h)	12
FGFR4(h)	12
KDR(h)	485
Flt4(h)	116
Lck(h)	>1.000
ABL(h), ALK(h), Aurora-A (h), Axl(h), cSRC(h), Flt3(h), IGF-1R(h), AJK2(h), MEK1(h), Mer(h), Met(h), Ret(h), Tie2(h)	>1.000

La Figura 1 demuestra la curva de dosis y respuesta inhibidora de cinasa para el compuesto 19 contra cinasas específicas en un sistema modelo que usa células BaF3 genéticamente modificadas para la expresión de cinasas específicas. En la Figura 1 estas cinasas provienen de la clase de cinasas de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR1-FGFR4). La actividad inhibidora de cinasas del Compuesto 19 FGFR1-FGFR4 también se ilustra en la Tabla 5. En términos generales, el Compuesto 19 demuestra actividad inhibidora de cinasa importante.

Tabla 5. Actividad del Compuesto 19 contra cinasas de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos

Compuesto	Ensayo	CI50(nM)
Comp. 19	Parental	1.890

Compuesto	Ensayo	CI50(nM)
	FGFR1	11,4
	FGFR2	17,6
	FGFR3	32,6
	FGFR4	92,1

El Compuesto 19 tiene además propiedades antiproliferativas importantes. La Tabla 6 resume los resultados con el Compuesto 19 ensayado con el ensayo de proliferación descrito en el Ejemplo 2.

- 5 Como se muestra en la Tabla 6, el Compuesto 19 tiene actividad antiproliferativa significativa contra algunas, aunque no todas, las líneas celulares ensayadas. Cabe destacar que una característica común de las células susceptibles es su expresión de uno de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos. En este ensayo, el Compuesto 19 es especialmente eficaz en KG1a que es una línea celular hecha de una forma de leucemia mieloide aguda ("AML").

Tabla 6. Actividad celular del Compuesto 19

Cáncer	Líneas celulares	CE50 (nM)
Leucemia mieloide aguda (AML)	KG1a(mFGFR1)	0,06
Leucemia mieloide aguda (AML)	pFGFR1, KG 1a	0,49
Gástrico	pFGFR2, Kato III	0,20
Hepático	HcpG2-C3A	1900
sarcoma uterino	MES-SA	0,65
Pancreático	BxPC3	>500
Pancreático	Panc 1	>500
Cervicouterino	Hela	>500

- 10 El perfil de farmacocinética del Compuesto 19 en ratas se presenta en la Tabla 7. Los expertos en la técnica apreciarían que, si bien no son perfectamente predictivos, estos resultados serían similares en otros animales como, p. ej., pacientes humanos. El perfil de farmacocinética del Compuesto 19 coincide con el Compuesto 19 que se está usando como agente terapéutico.

- 15 Tabla 7. Perfil de farmacocinética del Compuesto 19 en ratas

Estudio	Resultados		
		Compuesto 19	
PK (Rata)	IV (1 mg/Kg)	Semivida terminal (h.)	6,81
		Vz (L/kg)	9,54
		C1 (ml/min/kg)	17,57

	PO (5 mg/Kg)	Biodisponibilidad oral (%F)	76
--	--------------	-----------------------------	----

La semivida metabólica del Compuesto 19 se determinó en sistemas modelo de ser humano, rata y ratón que se presentan en la Tabla 7. Los expertos en la técnica reconocerán que estos resultados indican que el Compuesto 19 puede ser bastante estable *in vivo*.

5 Tabla 8. Estabilidad metabólica del Compuesto 19

Artículo de ensayo	Semivida metabólica (min)		
	Microsomos hepáticos humanos	Microsomos hepáticos de rata	Microsomos hepáticos de ratón
DASATINIB	7,5	11,9	9,2
COMPUESTO 19	>60	>60	>60

La Tabla 9 describe datos de toxicidad para el compuesto 19 de distintos ensayos de toxicidad conocidos por el experto en la técnica. Estos resultados no presentan nada que sugiera contra la institución del ensayo de Fase I para el compuesto 19.

10 Tabla 9. Evaluación de toxicidad del Compuesto 19

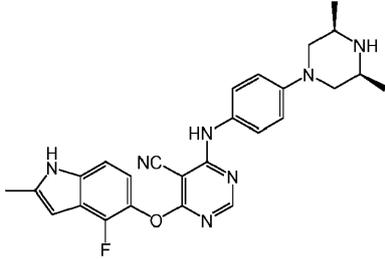
Toxicidad	Ensayo	Resultados
Celular	Línea celular HepG2 (CC ₅₀)	1,9 µM
	Hepatocito humano primario (CC ₅₀)	20 µM
Aguda <i>in vivo</i>	MTD (PO, rata)	100 mg/kg
Cardiovascular	hERG (CI ₅₀)	>30 µM
CYP450	1A2 (CI ₅₀)	72,0 µM
	2C8 (CI ₅₀)	10,6 µM
	2C9 (CI ₅₀)	32,9 µM
	2D6 (CI ₅₀)	>100 µM
	3A4 (CI ₅₀)	67,3 µM

15 Sorprendentemente, se descubrió que el Compuesto 19 tiene actividad antitumoral importante en un modelo de ratón atímico de AML. La Figura 2 demuestra que ambas dosis del compuesto 19 resultaron en una supresión prácticamente completa de la expansión de células tumorales. La Figura 3 demuestra que el peso del animal, utilizado como marcador sustituido para toxicidad, no exhibió diferencia entre los animales tratados con control y con el compuesto 19. Estos resultados se confirman en el estudio de dosis y respuesta en el mismo modelo animal ilustrado en las Figuras 4 y 5. (Cabe destacar que la dosis más alta del Compuesto 19 (20 mg/kg) resulta en una pérdida de peso importante, lo que sugiere la presencia de toxicidad generalizada, en lugar de efecto específico en las células cancerosas).

20 En términos generales, estos datos sobre la conducta del compuesto 19 concuerdan a la perfección con respecto a que este compuesto se desarrolla en un agente antiproliferación/antitumor.

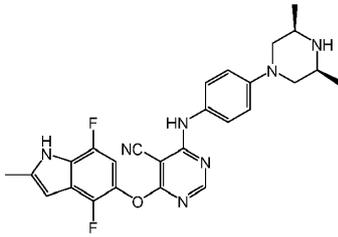
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula



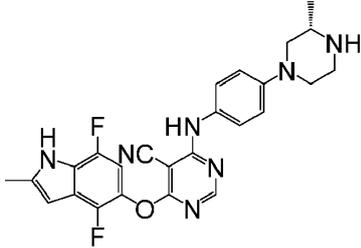
o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

5 2. Un compuesto de fórmula



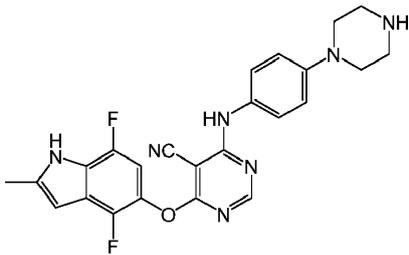
o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

3. Un compuesto de fórmula



10 o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

4. Un compuesto de fórmula



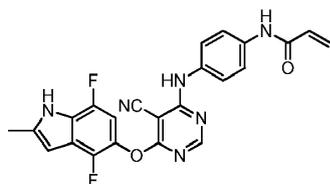
o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

5. Un compuesto de fórmula



15 o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

6. Un compuesto de fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

7. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para uso en el tratamiento de un animal que padece un trastorno proliferativo celular en donde el uso comprende:

- 5 a. Preparar, o causar que se prepare, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6;
- b. opcionalmente, formular, o causar que se formule, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la etapa a con un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
- 10 c. que el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la etapa a o la formulación de la etapa b se administre, o se cause que se administre, al animal que padece el trastorno proliferativo.
8. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 7, en donde el animal es un mamífero.
9. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 8, en donde el animal es un ser humano.
- 15 10. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en donde el trastorno proliferativo celular es un cáncer, un estado precanceroso, un tumor benigno, trastorno autoinmune, rechazo de trasplante, enfermedad injerto contra hospedante, respuesta a una infección, respuesta a un ataque del medio ambiente o un trastorno genético.
- 20 11. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en donde el trastorno proliferativo celular es un cáncer.
- 25 12. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 11, en donde el cáncer es un cáncer de piel, cáncer de mama, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer de testículo, cáncer de próstata, cáncer nasofaríngeo, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer hepático, cáncer biliar, cáncer de páncreas, linfoma, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de esófago, leucemia mieloide, leucemia linfocítica, trastorno mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico, linfoma, cáncer neuroendocrino, sarcoma o tumor cerebral.

Figura 1

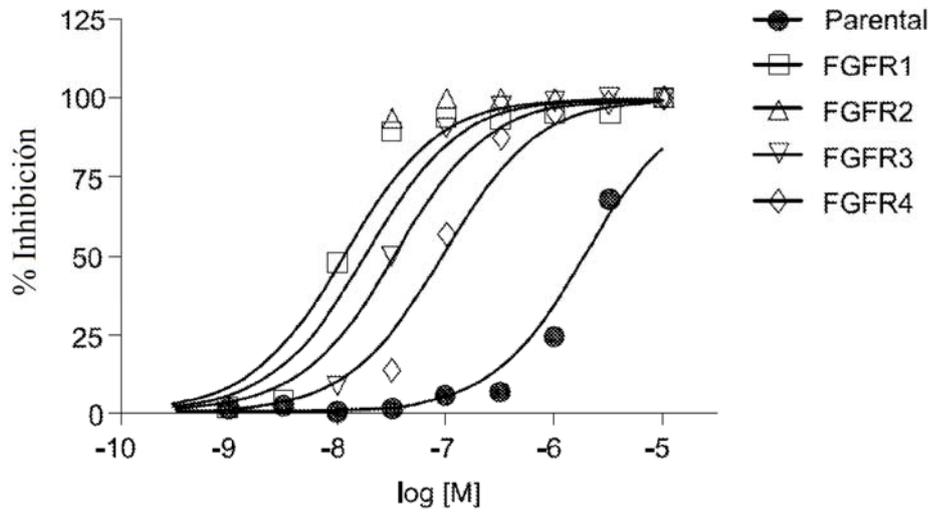


Figura 2

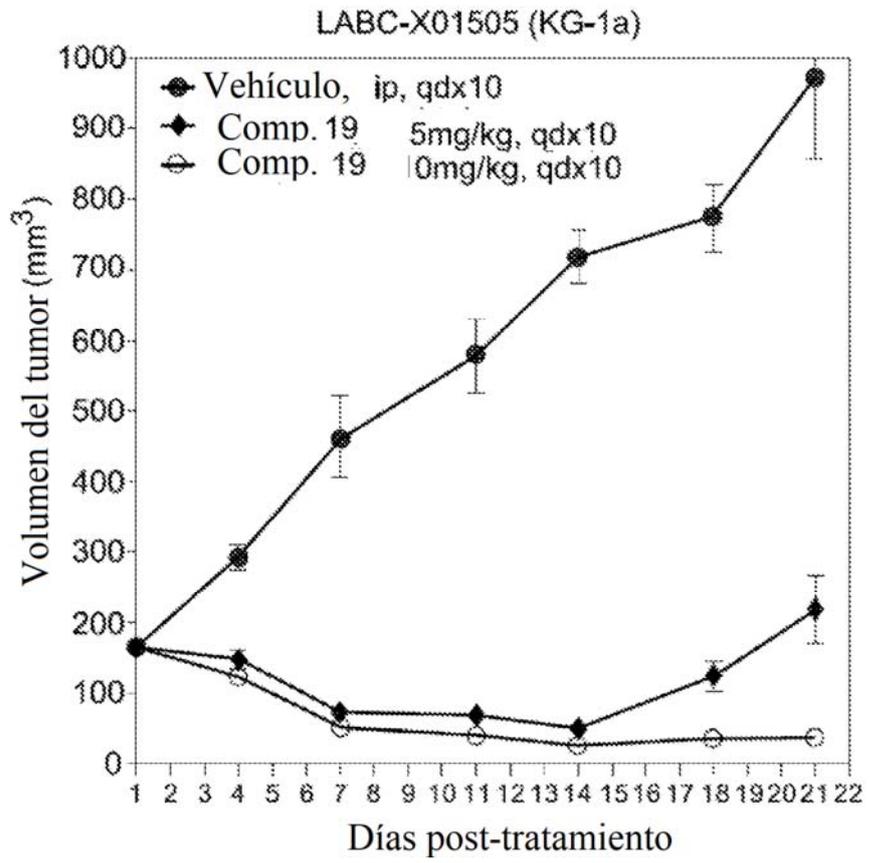


Figura 3

