

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 741**

51 Int. Cl.:

**C07D 413/04** (2006.01)

**A61K 31/497** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2012 E 15151822 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2019 EP 2940017**

54 Título: **Procedimiento para fabricar compuestos útiles como inhibidores de la quinasa ATR**

30 Prioridad:

**30.09.2011 US 201161541865 P**

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

**01.04.2020**

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED  
(100.0%)  
50 Northern Avenue  
Boston, MA 02210, US**

72 Inventor/es:

**CHARRIER, JEAN-DAMIEN;  
STUDLEY, JOHN;  
PIERARD, FRANCOISE YVONNE THEODORA  
MARIE;  
DURRANT, STEVEN JOHN;  
LITTLER, BENJAMIN JOSEPH;  
HUGHES, ROBERT MICHAEL;  
SIESEL, DAVID ANDREW;  
ANGELL, PAUL;  
URBINA, ARMANDO y  
SHI, YI**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 751 741 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

Procedimiento para fabricar compuestos útiles como inhibidores de la quinasa ATR

5 **Antecedentes de la invención**

La quinasa ATR (forma siglada de *ATM and Rad3 related*: relacionada con ATM y Rad3) es una proteína quinasa implicada en respuestas celulares al daño del ADN. La quinasa ATR actúa con la quinasa ATM ("ataxia telangiectasia mutada") y muchas otras proteínas para regular la respuesta de las células al daño del ADN, denominada comúnmente como respuesta al daño del ADN ("DDR", forma siglada de *DNA Damage Response*). La DDR estimula la reparación del ADN, promueve la supervivencia y detiene la progresión del ciclo celular activando los puntos de control del ciclo celular, lo que proporciona tiempo para la reparación. Sin la DDR, las células son mucho más sensibles al daño del ADN y mueren fácilmente por lesiones en el ADN inducidas por procesos celulares endógenos, tales como la replicación del ADN o agentes exógenos que dañan el ADN, utilizados comúnmente en el tratamiento contra el cáncer.

Las células sanas pueden contar con una gran variedad de proteínas distintas para la reparación del ADN, que incluyen la quinasa ATR de DDR. En algunos casos, estas proteínas pueden compensarse entre sí activando procesos de reparación del ADN funcionalmente redundantes. Por el contrario, muchas células cancerosas portan defectos en algunos de sus procesos de reparación del ADN, tales como la señalización de la ATM y, por lo tanto, presentan una mayor dependencia en sus proteínas de reparación del ADN que permanecen intactas, las cuales incluyen a ATR.

Además, muchas células cancerosas expresan oncogenes activados o carecen de supresores tumorales clave, y esto puede convertir a estas células cancerosas en propensas a fases desreguladas de replicación del ADN, lo que a su vez produce daño al ADN. La ATR se ha implicado como un componente crítico de la DDR en respuesta a la replicación alterada del ADN. Como resultado, estas células cancerosas son más dependientes de la actividad de la ATR para la supervivencia de las células sanas. Por consiguiente, los inhibidores de la ATR pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer, utilizados ya sea solos o en combinación con agentes que dañan el ADN, ya que suprimen un mecanismo de reparación del ADN que es más importante para la supervivencia celular de muchas células cancerosas que para células normales sanas.

De hecho, se ha demostrado que la alteración de la función de ATR (por ejemplo, por la delección de genes) promueve la muerte de células cancerosas tanto en ausencia como en presencia de agentes que dañan el ADN. Esto sugiere que los inhibidores de ATR pueden ser eficaces como agentes únicos y como potentes sensibilizantes a la radioterapia o la quimioterapia genotóxica.

Por todos estos motivos, existe la necesidad de desarrollar inhibidores de ATR potentes y selectivos para el tratamiento del cáncer, ya sea como agentes únicos o como terapias de combinación con radioterapia o quimioterapia genotóxica. Adicionalmente, sería conveniente tener una ruta sintética para los inhibidores de ATR que sea susceptible de síntesis a gran escala y mejore los métodos conocidos actualmente.

El péptido ATR puede expresarse y aislarse utilizando una diversidad de métodos conocidos en la bibliografía (véase, por ejemplo, Unsal-Kapmaz *et al.*, PNAS 99: 10, pág. 6673-6678, martes 14 de mayo de 2002; véase también Kumagai *et al.* *Cell* 124, pág. 943-955, 10 de marzo de 2006; Unsal-Kacmaz *et al.* *Molecular and Cellular Biology*, feb. de 2004, pág. 1292-1300; y Hall-Jackson *et al.* *Oncogene* 1999, 18, 6707-6713). El documento WO 2010/071837 se refiere a derivados de pirazina útiles como inhibidores de ATR.

**Descripción de las figuras**

FIGURA 1a: XRPD base libre del Compuesto I-2  
 FIGURA 2a: TGA base libre del Compuesto I-2  
 FIGURA 3a: DSC base libre del Compuesto I-2  
 FIGURA 4a: representación ORTEP de la unidad asimétrica de la estructura de un solo cristal de la forma libre del Compuesto I-2  
 FIGURA 1b: XRPD Compuesto I-2 • HCl  
 FIGURA 2b: TGA Compuesto I-2 • HCl  
 FIGURA 3b: DSC Compuesto I-2 • HCl  
 FIGURA 4b: representación ORTEP de la unidad simétrica de la estructura anhidra del Compuesto I-2 • HCl.  
 FIGURA 1c: XRPD Compuesto I-2 • 2HCl  
 FIGURA 2c: TGA Compuesto I-2 • 2HCl  
 FIGURA 3c: DSC Compuesto I-2 • 2HCl  
 FIGURA 1d: XRPD Compuesto I-2 • monohidrato HCl  
 FIGURA 2d: TGA Compuesto I-2 • monohidrato HCl  
 FIGURA 3d: DSC Compuesto I-2 • monohidrato HCl  
 FIGURA 1e: XRPD Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

FIGURA 2e: TGA Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O  
 FIGURA 3e: DSC Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O  
 FIGURA 4a: estado sólido de base libre del Compuesto I-1  
 FIGURA 4b: <sup>13</sup>CNMR de estado sólido del Compuesto I-1 • HCl

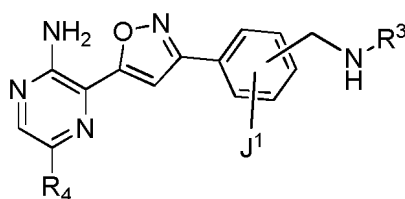
5

**Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I-2 como se define en la reivindicación 1, con realizaciones preferentes establecidas en las reivindicaciones dependientes. La presente divulgación se refiere a procedimientos e intermedios para la preparación de compuestos útiles como inhibidores de la quinasa ATR, tales como derivados de aminopirazina-isoxazol y moléculas relacionadas. Los derivados de aminopirazina-isoxazol son útiles como inhibidores de ATR y también son útiles para preparar inhibidores de ATR. La presente divulgación también se refiere a formas sólidas de inhibidores de ATR, así como a inhibidores de ATR deuterados.

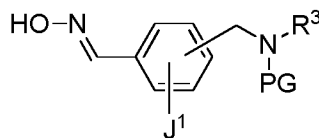
15

Un aspecto de la divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula I:



**I**

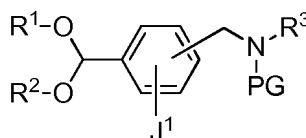
20 que comprende preparar un compuesto de fórmula 4:



**4**

a partir de un compuesto de fórmula 3:

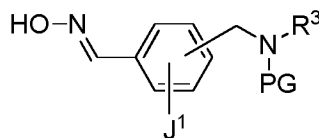
25



**3**

en condiciones de formación de oxima adecuadas.

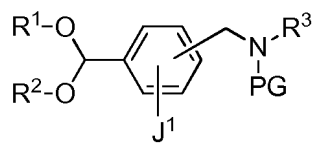
30 Otro aspecto comprende preparar un compuesto de fórmula 4:



**4**

a partir de un compuesto de fórmula 3:

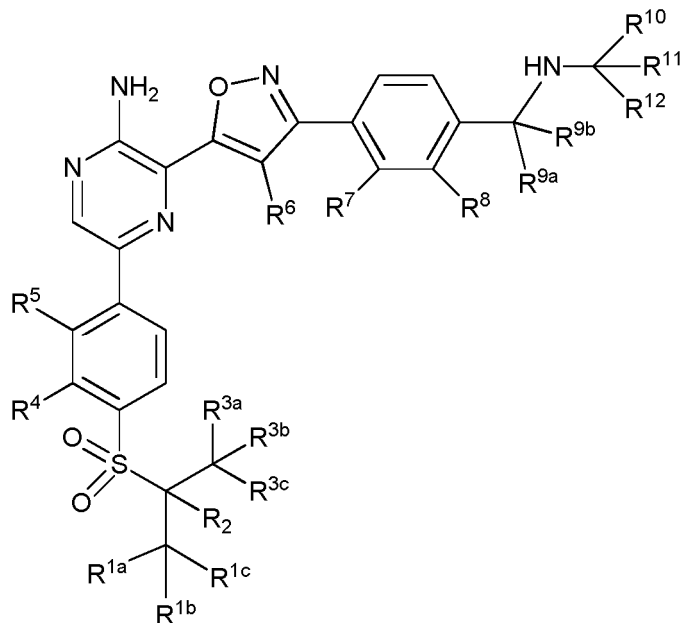
35



3

en condiciones de formación de oxima adecuadas.

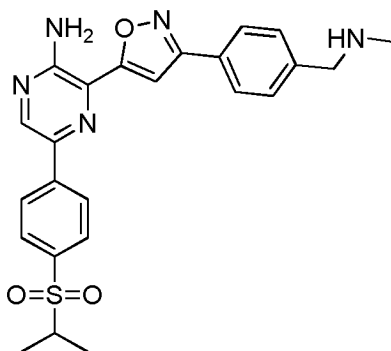
5 Otro aspecto de la presente divulgación comprende un compuesto de fórmula II:



II

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que cada R<sup>1a</sup>, R<sup>1b</sup>, R<sup>1c</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3a</sup>, R<sup>3b</sup>, R<sup>3c</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> y R<sup>13</sup> es independientemente hidrógeno o deuterio, y al menos uno de R<sup>1a</sup>, R<sup>1b</sup>, R<sup>1c</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3a</sup>, R<sup>3b</sup>, R<sup>3c</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> y R<sup>13</sup> es deuterio.

Otro aspecto más de la divulgación proporciona formas sólidas de un compuesto de fórmula I-2:



I-2

15

Otros aspectos de la invención se exponen en el presente documento.

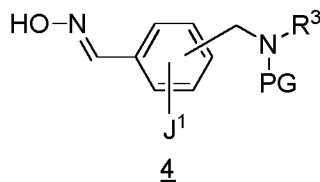
20

La presente invención tiene varias ventajas sobre métodos previamente conocidos. En primer lugar, el presente proceso tiene un número menor de etapas sintéticas totales en comparación con los procesos desvelados previamente. En segundo lugar, el presente proceso tiene rendimientos mejorados sobre los procesos desvelados previamente. En tercer lugar, el presente proceso es eficaz para compuestos en los que R<sup>3</sup> es un amplio intervalo de grupos, tales como grupos alquilo o un gran, resto impedido, tal como un anillo. En cuarto lugar, el presente proceso comprende intermedios que son más estables y tienen una semivida más larga. En ciertas realizaciones, la

formación no ácida del grupo oxima en el presente proceso permite la conservación de grupos protectores sensibles a ácidos, tales como Boc o CBz durante el transcurso de la síntesis. En otras realizaciones, el proceso es más fácil de escalar a cantidades mayores debido a la eliminación de la cromatografía como una etapa de purificación.

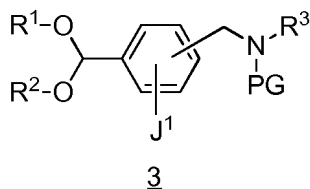
5 **Descripción detallada de la invención**

Un aspecto de la divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de preparación de un compuesto de fórmula 4:



10

a partir de un compuesto de fórmula 3:



15

en condiciones de formación de oxima adecuadas;  
en la que

20 R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>2</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

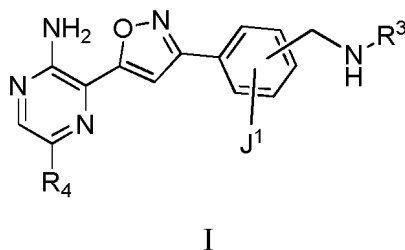
25 o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, forman un anillo heterocíclico saturado de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene dos átomos de oxígeno;

R<sup>3</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> o un heterociclilo saturado o parcialmente insaturado de 3-6 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno y azufre; en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1 aparición de halo o alquilo C<sub>1-3</sub>;

30 J<sup>1</sup> es halo, alquilo C<sub>1-4</sub> o alcoxi C<sub>1-4</sub>;

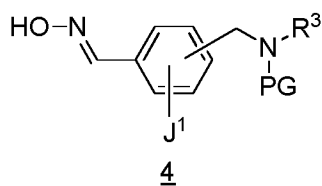
PG es un grupo protector de carbamato.

35 Otro aspecto proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula I:

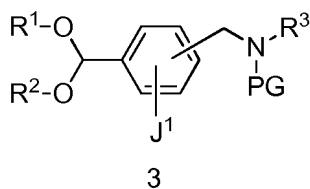


que comprende las etapas de:

40 preparar un compuesto de fórmula 4:



a partir de un compuesto de fórmula 3:



5

en condiciones de formación de oxima adecuadas;

en la que

10

R¹ es alquilo C<sub>1-6</sub>;

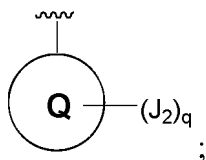
R² es alquilo C<sub>1-6</sub>;

15

o R¹ y R², junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, forman un anillo heterocíclico saturado de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene dos átomos de oxígeno;

20

R³ es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> o un heterociclilo saturado o parcialmente insaturado de 3-6 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno y azufre; en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1 aparición de halo o alquilo C<sub>1-3</sub>;



R⁴ es

25

Q es fenilo, piridilo o una piridina N-alquilada;

J¹ es H, halo, alquilo C<sub>1-4</sub> o alcoxi C<sub>1-4</sub>;

30

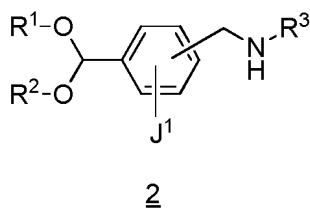
J² es halo; CN; fenilo; oxazolilo; o un grupo alifático C<sub>1-6</sub> en el que hasta 2 unidades de metileno están opcionalmente reemplazadas por O, NR", C(O), S, S(O) o S(O)<sub>2</sub>; dicho grupo alifático C<sub>1-6</sub> está opcionalmente sustituido con 1-3 flúor o CN;

q es 0, 1 o 2;

35

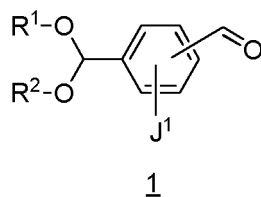
PG es un grupo protector de carbamato.

Otra realización comprende adicionalmente la etapa de proteger un compuesto de fórmula 2:



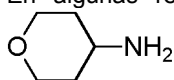
40 en condiciones de protección adecuadas para formar el compuesto de fórmula 3.

Otra realización comprende adicionalmente la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula 1:

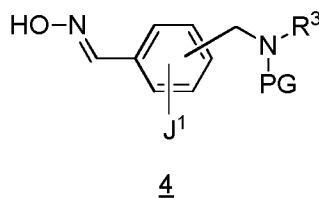


5 con una amina adecuada en condiciones de aminación reductora adecuadas para formar un compuesto de fórmula **2**.

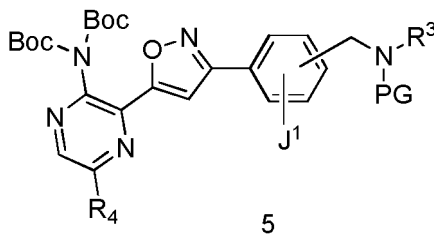
En algunas realizaciones, la amina adecuada es NHCH<sub>3</sub>. En otras realizaciones, la amina adecuada es



10 Otra realización comprende adicionalmente la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula **4**:



15 en condiciones de formación de isoxazol adecuadas para formar un compuesto de fórmula **5**:

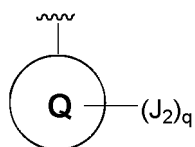


20 Otra realización comprende adicionalmente la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula **5** en condiciones de acoplamiento adecuadas, seguido de condiciones de desprotección adecuadas para formar un compuesto de fórmula I.

En algunas realizaciones, PG es Boc o Cbz. En algunas realizaciones, PG es Boc.

25 En otras realizaciones, R<sup>1</sup> es etilo y R<sup>2</sup> etilo.

En otras realizaciones más, R<sup>3</sup> es CH<sub>3</sub> o



30 En algunas realizaciones, R<sup>4</sup> es ; en el que Q es fenilo. En algunas realizaciones, Q está sustituido en la posición para con J<sub>2</sub>, en el que q es 1.

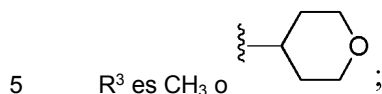
En algunas realizaciones, J<sup>1</sup> es H o halo. En algunas realizaciones, J<sup>1</sup> es H. En otras realizaciones, J<sup>1</sup> es halo.

35 En otras realizaciones, J<sup>2</sup> es un grupo alifático C<sub>1-6</sub> en el que hasta 1 unidad de metileno está opcionalmente reemplazada por S(O)<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, J<sup>2</sup> es -S(O)<sub>2</sub>-(alquilo C<sub>1-5</sub>). En algunas realizaciones, q es 1.

De acuerdo con otra realización,

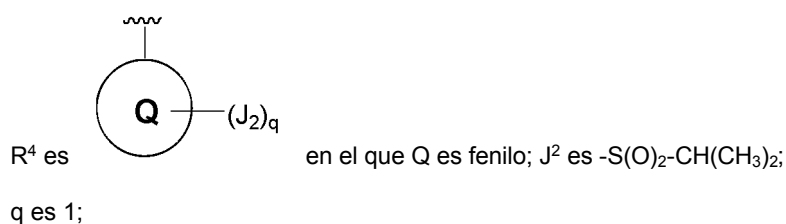
R<sup>1</sup> es etilo;

R<sup>2</sup> es etilo;

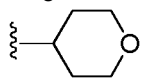


PG es Boc o Cbz;

10 J<sup>1</sup> es H;

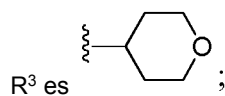


15 En algunas realizaciones, R<sup>3</sup> es CH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sup>3</sup> es CH<sub>3</sub>. En otras realizaciones más, R<sup>3</sup> es CH<sub>3</sub> o

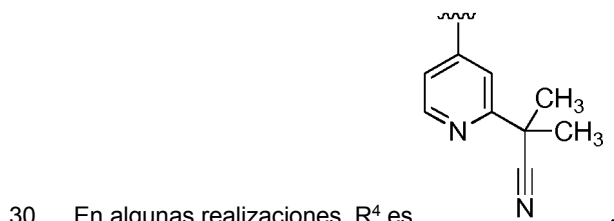
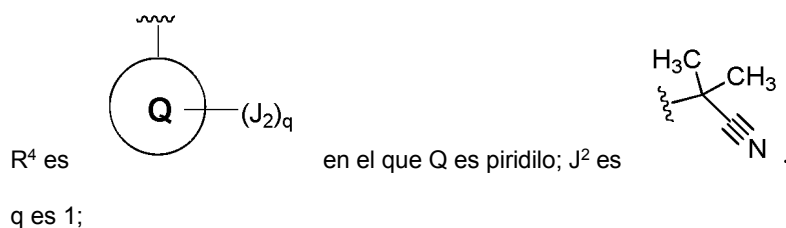


De acuerdo con otra realización, R<sup>1</sup> es etilo;

20 R<sup>2</sup> es etilo;



25 PG es Boc; J<sup>1</sup> es H;



#### Condiciones de reacción

35 En algunas realizaciones, las condiciones de formación de oxima adecuadas consisten en una secuencia de una sola etapa o una secuencia de dos etapas.

40 En algunas realizaciones, la secuencia de dos etapas consiste en desproteger en primer lugar el grupo cetal en el compuesto de fórmula 3 en un aldehído en condiciones de desprotección adecuadas, y después formar la oxima de fórmula 4 en condiciones de formación de oxima adecuadas. En algunas realizaciones, las condiciones de desprotección adecuadas comprenden añadir cantidades catalíticas de ácido para-toluenosulfónico (pTSA), acetona y agua; y las condiciones de formación de oxima adecuadas comprenden mezclar juntos hidroxilamina, una cantidad



catalítica de ácido, un agente de deshidratación y un disolvente alcohólico. En otras realizaciones, el ácido es pTSA o HCl, el agente de deshidratación es tamices moleculares o dimetoxiacetona, y el disolvente alcohólico es metanol o etanol.

- 5 En otras realizaciones, la secuencia de una sola etapa comprende añadir  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  y una mezcla de THF y agua. En otras realizaciones, la secuencia comprende añadir  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  con una mezcla de 2-metil tetrahidrofurano y agua opcionalmente tamponada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . En algunas realizaciones, se combina 1 equivalente del compuesto de fórmula 3 con 1,1 equivalentes de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  en una mezcla 10:1 v/v de THF y agua. En algunas realizaciones, se combina 1 equivalente del compuesto de fórmula 3 con 1,1 equivalentes de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  en una mezcla 10:1 v/v de 2-metil tetrahidrofurano y agua opcionalmente tamponada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

En otras realizaciones, las condiciones de protección se seleccionan entre el grupo que consiste en

- 15
- $\text{R-OCOCl}$ , una base de amina terciaria adecuada y un disolvente adecuado; en el que R es alquilo  $\text{C}_{1-6}$  opcionalmente sustituido con fenilo;
  - $\text{R}(\text{CO}_2)\text{OR}'$ , un disolvente adecuado y opcionalmente una cantidad catalítica de base, en el que R y R' son cada uno independientemente alquilo  $\text{C}_{1-6}$  opcionalmente sustituido con fenilo;
  - $[\text{RO}(\text{C}=\text{O})]_2\text{O}$ , una base adecuada y un disolvente adecuado.

- 20 En algunas realizaciones, la base adecuada es  $\text{Et}_3\text{N}$ , diisopropilamina y piridina; y el disolvente adecuado se selecciona entre un disolvente clorado, un éter o un hidrocarburo aromático. En otras realizaciones, la base adecuada es  $\text{Et}_3\text{N}$ , el disolvente adecuado es un disolvente clorado seleccionado entre DCM. En otras realizaciones más, las condiciones de protección comprenden añadir 1,20 equivalentes de  $(\text{Boc})_2\text{O}$  y 1,02 equivalentes de  $\text{Et}_3\text{N}$  en DCM.

- 25 De acuerdo con otra realización adecuada, las condiciones de acoplamiento comprenden añadir un metal adecuado y una base adecuada en un disolvente adecuado. En otras realizaciones, el metal adecuado es  $\text{Pd}[\text{P}(\text{tBu})_3]_2$ ; el disolvente adecuado es una mezcla de acetonitrilo y agua; y la base adecuada es carbonato sódico. En otras realizaciones más, las condiciones de acoplamiento adecuadas comprenden añadir 0,1 equivalentes de  $\text{Pd}[\text{P}(\text{tBu})_3]_2$ ; 1 equivalente de ácido o éster borónico; y 2 equivalentes de carbonato sódico en una proporción 2:1 v/v de acetonitrilo/agua a 60-70 °C.

- 30 De acuerdo con otra realización, las condiciones de desprotección adecuadas comprenden combinar el compuesto de fórmula 5 con un ácido adecuado en un disolvente adecuado. En algunas realizaciones, el ácido adecuado se selecciona entre ácido para-toluenosulfónico (pTSA), HCl, TBAF,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  o TFA y el disolvente adecuado se selecciona entre acetona, metanol, etanol,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOAc, THF, 2-MeTHF, dioxano, tolueno o éter dietílico.

- 35 De acuerdo con otra realización, las condiciones de formación de isoxazol adecuadas consisten en dos etapas, comprendiendo la primera etapa hacer reaccionar el compuesto de fórmula 4 en condiciones de formación de clorooxima adecuadas para formar un intermedio de clorooxima; comprendiendo la segunda etapa hacer reaccionar el intermedio de clorooxima con acetileno en condiciones de cicloadición adecuadas para formar un compuesto de fórmula 5.

- 40 De acuerdo con otra realización, las condiciones de formación de clorooxima adecuadas se seleccionan entre

- 45
- N-clorosuccinimida y un disolvente adecuado o
  - peroximonosulfato potásico, HCl y dioxano.

- 50 En algunas realizaciones, el disolvente adecuado se selecciona entre un disolvente no prótico, un hidrocarburo aromático o un acetato de alquilo. De acuerdo con otra realización, las condiciones de formación de clorooxima adecuadas son 1,05 equivalentes de N-clorosuccinimida en acetato de isopropilo a 40-50 °C.

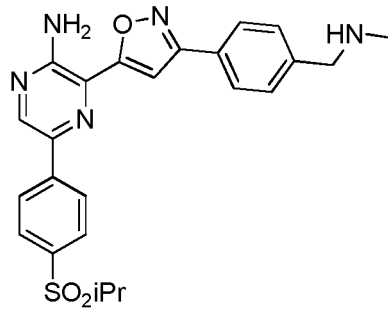
- 55 De acuerdo con otra realización, las condiciones de cicloadición adecuadas consisten en una base adecuada y un disolvente adecuado. En algunas realizaciones, la base adecuada se selecciona entre piridina, DIEA, TEA, t-BuONa y  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , y el disolvente adecuado se selecciona entre acetonitrilo, tetrahidrofurano, 2-metil tetrahidrofurano, MTBE, EtOAc, i-PrOAc, DCM, tolueno, DMF y metanol. En otras realizaciones, la base adecuada se selecciona entre  $\text{Et}_3\text{N}$  y el disolvente adecuado se selecciona entre DCM.

- 60 De acuerdo con otra realización, la segunda etapa comprende hacer reaccionar 1 equivalente de acetileno con 1,2 equivalentes del intermedio de clorooxima y 1,3 equivalentes de  $\text{Et}_3\text{N}$  en DCM a temperatura ambiente.

- 65 De acuerdo con otra realización, las condiciones de formación de isoxazol adecuadas comprenden combinar el compuesto de fórmula 4 con un oxidante en un disolvente adecuado. En algunas realizaciones, dicho oxidante es [bis(trifluoroacetoxi)yodo]benceno y dicho disolvente es una mezcla 1:1:1 de metanol, agua y dioxano.

Síntesis de Compuestos 1-2 y 1-3

Una realización de la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula I-2:

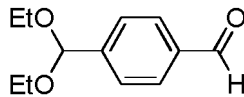


**I-2**

5

que comprende una o más de las siguientes etapas:

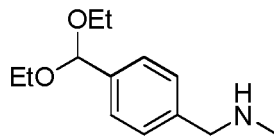
a) Hacer reaccionar un compuesto de fórmula 1b:



**1b**

10

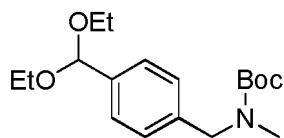
con metilamina en condiciones de aminación reductora adecuadas para formar un compuesto de fórmula 2b:



**2b**

15

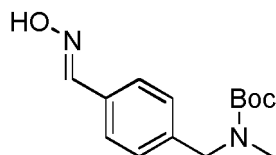
b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 2b en condiciones de protección de Boc adecuadas para formar el compuesto de fórmula 3b:



**3b**

20

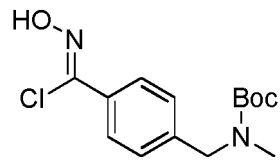
c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 3b en condiciones de formación de oxima adecuadas para formar el compuesto de fórmula 4-i:



**4-i**

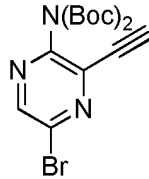
25

d) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 4-i en condiciones de formación de clorooxima adecuadas para formar el compuesto de fórmula 4-ii:



4-ii

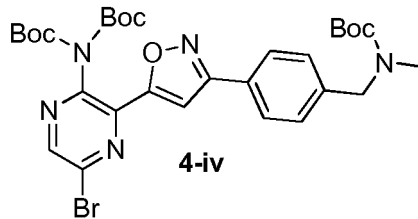
e) hacer reaccionar el compuesto de fórmula 4-ii con un compuesto de fórmula 4-iii



4-iii

5

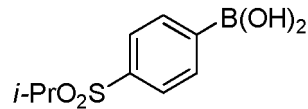
en condiciones de cicloadición adecuadas para formar un compuesto de fórmula 4-iv:



4-iv

10

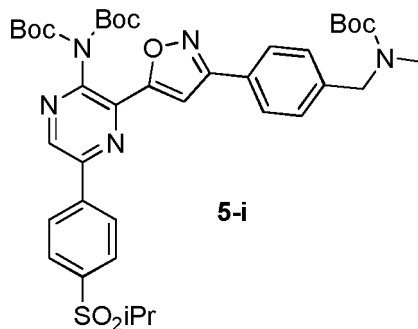
f) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 4-iv con un compuesto de fórmula A-5-i:



A-5-i

15

en condiciones de acoplamiento adecuadas para formar el compuesto de fórmula 5-i:

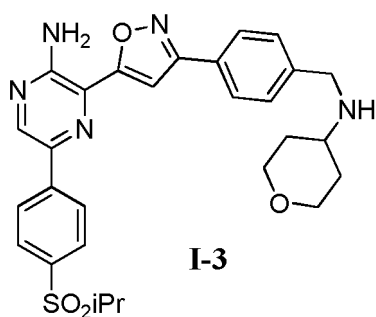


5-i

20

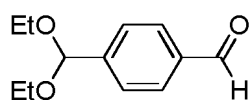
g) desproteger un compuesto de fórmula 5-i en condiciones de desprotección de Boc adecuadas, seguido opcionalmente de tratamiento en condiciones acuosas básicas para formar un compuesto de fórmula I-2.

Otra realización desvela un proceso para preparar un compuesto de fórmula I-3:



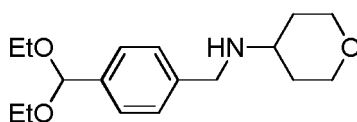
que comprende una o más de las siguientes etapas:

- 5 a) Hacer reaccionar un compuesto de fórmula A-1:



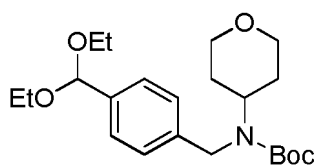
A-1

- 10 con tetrahidro-2H-piran-4-amina en condiciones de aminación reductora adecuadas para formar un compuesto de fórmula A-2:



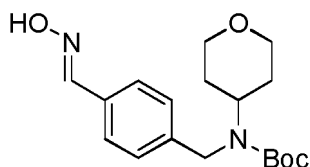
A-2

- 15 b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula A-2 en condiciones de protección de Boc adecuadas para formar el compuesto de fórmula A-3:



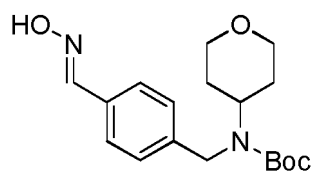
A-3

- 20 c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula A-3 en condiciones de formación de oxima adecuadas para formar el compuesto de fórmula A-4:

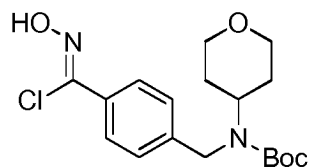


A-4

- 25 d) hacer reaccionar un compuesto de fórmula A-4:

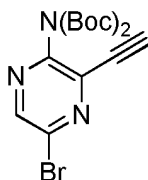
**A-4**

en condiciones de formación de clorooxima adecuadas para formar el compuesto de fórmula A-4-i:

**A-4-i**

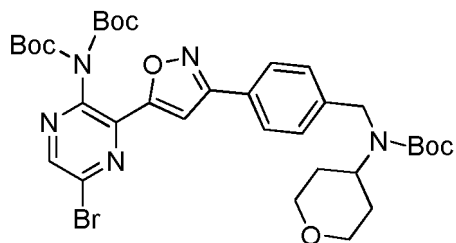
5

e) hacer reaccionar el compuesto de fórmula A-4-i con un compuesto de fórmula A-4-ii:

**A-4-ii**

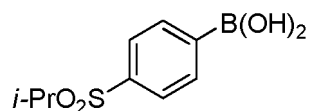
10

en condiciones de cicloadición adecuadas para formar el compuesto de fórmula A-5:

**A-5**

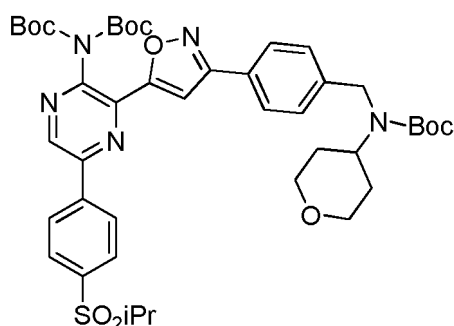
15

f) hacer reaccionar un compuesto de fórmula A-5 con un compuesto de fórmula A-5-i:

**A-5-i**

20

en condiciones de acoplamiento adecuadas para formar el compuesto de fórmula A-6:



A-6

g) desproteger un compuesto de fórmula A-6 en condiciones de desprotección de Boc adecuadas, seguido  
opcionalmente de tratamiento en condiciones acuosas básicas para formar un compuesto de fórmula I-3.

5

Las condiciones de acoplamiento adecuadas comprenden combinar un catalizador de paladio adecuado con una base adecuada en un disolvente adecuado. Los catalizadores de paladio adecuados incluyen, pero sin limitación, Pd[P(tBu)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, Pd(dtbpf)Cl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(PCy<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> y Pd(dppe)Cl<sub>2</sub>. Los disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, tolueno, MeCN, agua, EtOH, IPA, 2-Me-THF o IPAc. Las bases adecuadas incluyen, pero sin limitación, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

10

Las condiciones de formación de oxima adecuadas consisten en una secuencia de una sola etapa o una secuencia de dos etapas. La secuencia de dos etapas consiste en desproteger en primer lugar el grupo cetal en el compuesto de fórmula A-3 en un aldehído en condiciones de desprotección adecuadas, y después formar la oxima de fórmula A-4 en condiciones de formación de oxima adecuadas.

15

La secuencia de una sola etapa comprende, por ejemplo, comprende mezclar juntos hidroxilamina, un ácido, un disolvente orgánico y agua. En algunas realizaciones, se añade NH<sub>2</sub>OH.HCl a una mezcla de THF y agua. En algunas realizaciones, se combina 1 equivalente del compuesto de fórmula 3-A con 1,1 equivalentes de NH<sub>2</sub>OH.HCl en una mezcla 10:1 v/v de THF/agua.

20

Las condiciones de desprotección adecuadas comprenden añadir un ácido, acetona y agua. Los ácidos adecuados incluyen pTSA o HCl, los disolventes orgánicos adecuados incluyen disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo); un éter (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano); hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno y xilenos, u otros disolventes apróticos.

25

Las condiciones de cicloadición adecuadas comprenden una base adecuada (por ejemplo, piridina, DIEA, TEA, t-BuONa o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y un disolvente adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, MTBE, EtOAc, i-PrOAc, DCM, tolueno, DMF y metanol).

30

Las condiciones de formación de clorooxima adecuadas comprenden añadir HCl en dioxano a una solución de la oxima en presencia de NCS en un disolvente adecuado seleccionado entre disolventes no próticos (DCM, DCE, THF y dioxano), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos) y acetatos de alquilo (por ejemplo, acetato de isopropilo, acetato de etilo).

35

Las condiciones de desprotección de Boc adecuadas comprenden añadir un agente de desprotección de Boc adecuado (por ejemplo, TMS-Cl, HCl, TBAF, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> o TFA) y un disolvente adecuado (por ejemplo, acetona, tolueno, metanol, etanol, 1-propanol, isopropanol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, acetato de isopropilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, dioxano y éter dietílico). En algunas realizaciones, las condiciones de desprotección de Boc adecuadas comprenden añadir un agente de desprotección de Boc adecuado seleccionado entre HCl, TFA y un disolvente adecuado seleccionado entre acetona, tolueno, acetato de isopropilo, tetrahidrofurano o 2-metiltetrahidrofurano.

40

Las condiciones de protección de Boc adecuadas incluyen (Boc)<sub>2</sub>O, una base adecuada y un disolvente adecuado. Las bases adecuadas incluyen, pero sin limitación, Et<sub>3</sub>N, diisopropilamina y piridina. Los disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo); un éter (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano); hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno y xilenos, u otros disolventes apróticos. En algunas realizaciones, la base adecuada es Et<sub>3</sub>N, el disolvente adecuado es DCM, tetrahidrofurano o 2-metiltetrahidrofurano. En ciertas realizaciones, las condiciones de protección comprenden añadir 1,05 equivalentes de (Boc)<sub>2</sub>O en 2-metiltetrahidrofurano o DCM.

45

50

Las condiciones de aminación reductora adecuadas comprenden añadir un agente reductor seleccionado entre NaBH<sub>4</sub>, NaBH<sub>3</sub>CN o NaBH(OAc)<sub>3</sub> en presencia de un disolvente seleccionado entre diclorometano (DCM),



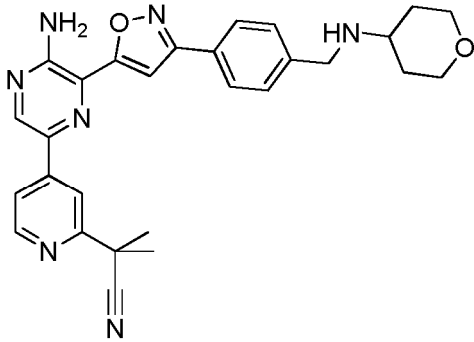




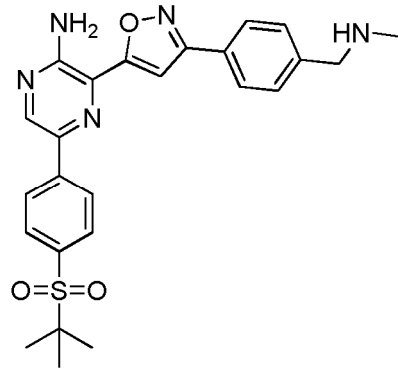
realizaciones, R<sup>1a</sup>, R<sup>1b</sup>, R<sup>1c</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3a</sup>, R<sup>3b</sup>, R<sup>3c</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10a</sup>, R<sup>10b</sup> y R<sup>10c</sup> son deuterio, y R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son deuterio o hidrógeno. En otras realizaciones, R<sup>1a</sup>, R<sup>1b</sup>, R<sup>1c</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3a</sup>, R<sup>3b</sup>, R<sup>3c</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10a</sup>, R<sup>10b</sup> y R<sup>10c</sup> es deuterio y R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son hidrógeno.

5 En algunas realizaciones, las variables son como se representan en los compuestos de la divulgación que incluyen compuestos en las tablas posteriores.

Tabla I

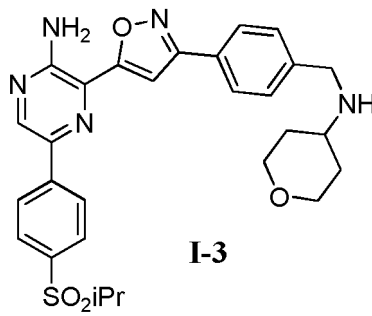


I-1



I-2

10

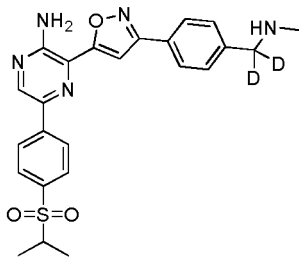


I-3

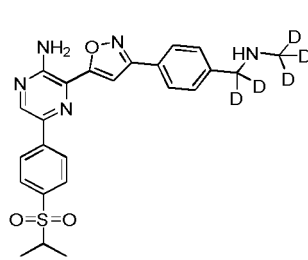
I-3

Tabla II

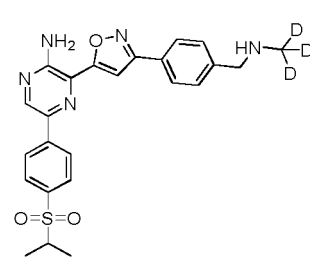
15



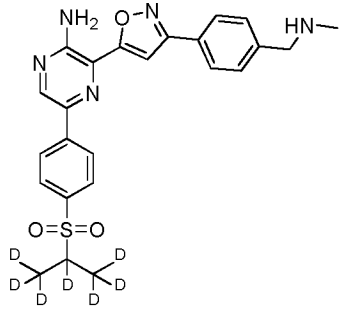
II-1



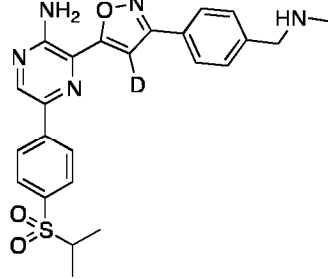
II-2



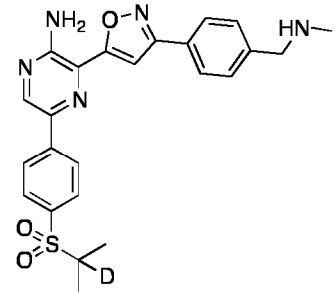
II-3



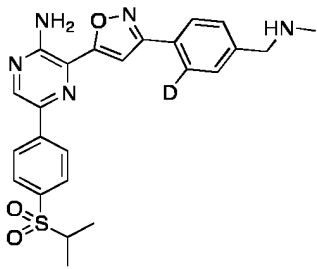
II-4



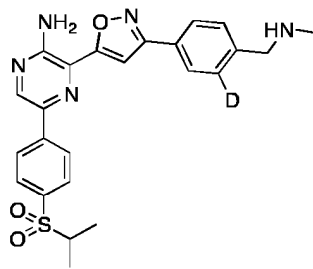
II-5



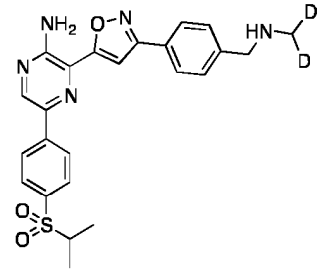
II-6



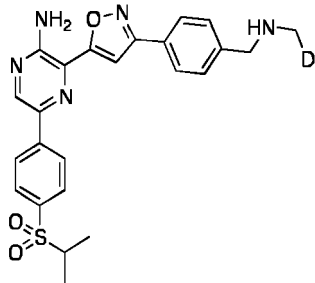
II-7



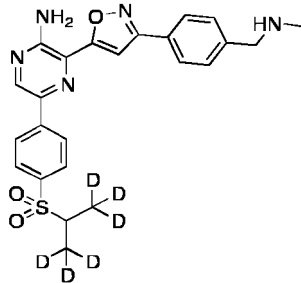
II-8



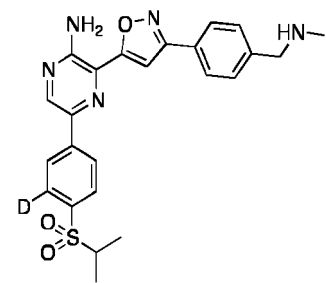
II-9



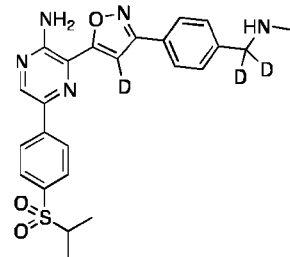
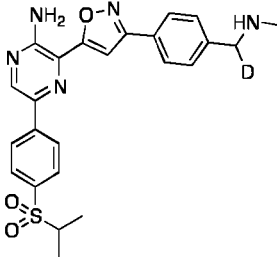
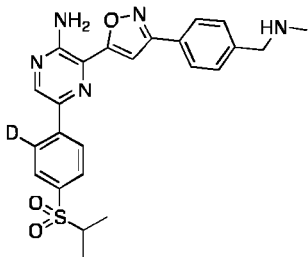
II-10



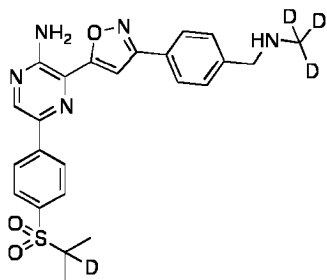
II-11



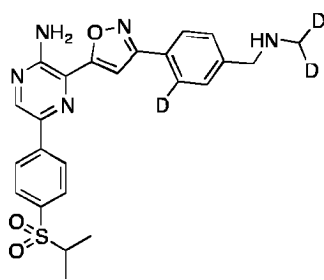
II-12



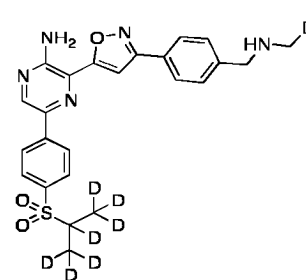
II-13



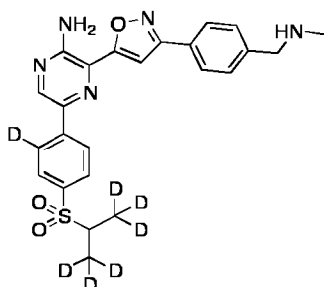
II-14



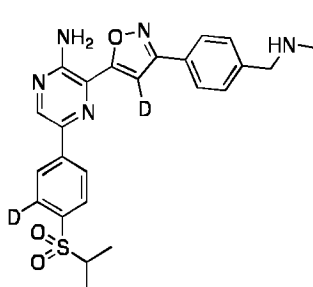
II-15



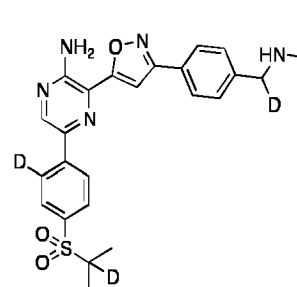
II-16



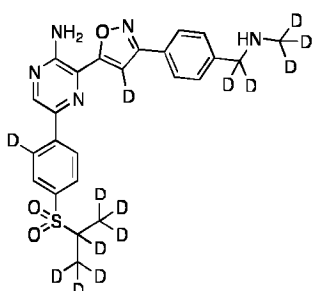
II-17



II-18



II-19



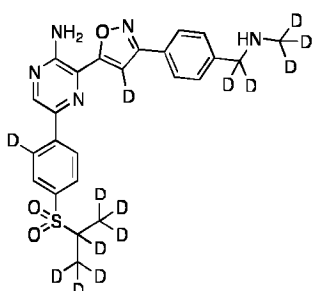
II-20



II-21



II-22



5

Los compuestos de esta invención incluyen los descritos en el presente documento generalmente y se ilustran adicionalmente mediante clases, subclases y especies divulgadas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario. Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed. Adicionalmente, se describen principios generales de química orgánica en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª Ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

10

15 Como se describe en el presente documento, un intervalo numérico especificado de átomos incluye cualquier número entero dentro del mismo. Por ejemplo, un grupo que tiene de 1-4 átomos podría tener 1, 2, 3 o 4 átomos.

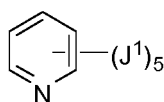
Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como se ilustran generalmente en el presente documento o como se ejemplifican mediante clases particulares, subclases y especies concretas de la invención. Se apreciará que la frase "opcionalmente sustituido" se usa de un modo intercambiable con la frase "sustituido o sin sustituir". En general, el término "sustituido", ya esté precedido o no por el término "opcionalmente", se refiere a la sustitución de radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes

20

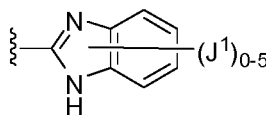
25

previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente factibles.

A menos que se indique otra cosa, un sustituyente conectado por un enlace representado desde el centro de un anillo significa que el sustituyente puede estar unido a cualquier posición en el anillo. En el ejemplo i posterior, por ejemplo, J<sup>1</sup> puede estar enlazado a cualquier posición en el anillo pirídilo. Para anillos bicíclicos, un enlace representado a través de ambos anillos indica que el sustituyente puede enlazarse desde cualquier posición del anillo bicíclico. En el ejemplo ii posterior, por ejemplo, J<sup>1</sup> puede estar enlazado al anillo de 5 miembros (en el átomo de nitrógeno, por ejemplo) y al anillo de 6 miembros.



i



ii

El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran de forma sustancial cuando se los somete a condiciones para permitir su producción, detección, recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos divulgados en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto factible químicamente es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40 °C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

La expresión "alifático" o "grupo alifático", como se usa en el presente documento, significa una cadena lineal (es decir, no ramificada), ramificada o cíclica, cadena de hidrocarburo sustituido o sin sustituir que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, que tiene un punto único de unión al resto de la molécula.

A menos que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los grupos alifáticos pueden ser grupos alquilo, alquenoilo o alquiniilo lineales o ramificados, sustituidos o sin sustituir. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, isopropilo, n-propilo, sec-butilo, vinilo, n-butenilo, etinilo y *tert*-butilo. Los grupos alifáticos también puede ser cíclicos o tener una combinación de grupos lineales o ramificados y cíclicos. Los ejemplos de tales tipos de grupos alifáticos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, -CH<sub>2</sub>-ciclopropilo, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-ciclohexilo.

El término "cicloalifático" (o "carbociclo" o "carbociclilo") se refiere a un hidrocarburo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> monocíclico o un hidrocarburo C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub> bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un único punto de unión al resto de la molécula en el que cualquier anillo individual en dicho sistema de anillo bicíclico tiene 3-7 miembros. Los ejemplos de grupos cicloalifáticos incluyen, pero sin limitación, grupos cicloalquilo y cicloalquenoilo. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, ciclohexilo, ciclopropenilo y ciclobutilo.

El término "heterociclo", "heterociclilo" o "heterocíclico" como se usa en el presente documento significa sistemas de anillo no aromáticos, monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos en los que uno o más miembros del anillo son un heteroátomo seleccionado independientemente. En algunas realizaciones, el "heterociclo", "heterociclilo" o grupo "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros de anillo en el que uno o más miembros del anillo son un heteroátomo seleccionado independientemente entre oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo, y cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo.

Los ejemplos de heterociclos incluyen, pero sin limitación, 3-1*H*-benzoimidazol-2-ona, 3-(1-alquil)-benzoimidazol-2-ona, 2-tetrahidrofuranóilo, 3-tetrahidrofuranóilo, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolino, 3-morfolino, 4-morfolino, 2-tiomorfolino, 3-tiomorfolino, 4-tiomorfolino, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-tetrahidropiperazinilo, 2-tetrahidropiperazinilo, 3-tetrahidropiperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 1-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, 4-pirazolinilo, 5-pirazolinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 2-tiazolidinilo, 3-tiazolidinilo, 4-tiazolidinilo, 1-imidazolidinilo, 2-imidazolidinilo, 4-imidazolidinilo, 5-imidazolidinilo, indolinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, benzotiolano, benzoditiano y 1,3-dihidro-imidazol-2-ona.

Los grupos cíclicos, (por ejemplo, cicloalifáticos y heterociclos), pueden ser linealmente condensados, puenteados o espirocíclicos.

El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio (incluyendo, cualquier

forma oxidada del nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR+ (como en pirrolidinilo N-sustituído)).

- 5 El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación. Como lo sabría un experto en la materia, los grupos insaturados pueden estar parcialmente insaturados o completamente insaturados. Los ejemplos de grupos parcialmente insaturados incluyen, pero sin limitación, buteno, ciclohexeno y tetrahidropiridina. Los grupos totalmente insaturados pueden ser aromáticos, anti-aromáticos o no aromáticos. Los ejemplos de grupos totalmente insaturados incluyen, pero sin limitación, fenilo, ciclooctatetraeno, 10 piridilo, tienilo y 1-metilpiridin-2(1H)-ona.

El término "alcoxi" o "tioalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, se une a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi") o azufre ("tioalquilo").

- 15 Los términos "haloalquilo", "haloalqueno", "haloalifático" y "haloalcoxi" significan alquilo, alqueno o alcoxi, según sea el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. Este término incluye grupos alquilo perfluorados, tales como -CF<sub>3</sub> y -CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

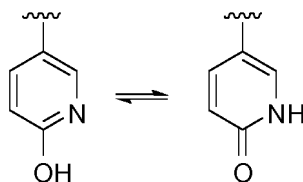
Los términos "halógeno", "halo" y "hal" significan F, Cl, Br o I.

- 20 El término "arilo" usado solo o como parte de un resto mayor como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo del sistema es aromático y en el que cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "arilo" puede usarse de un modo intercambiable con la expresión "anillo arilo".

- 25 El término "heteroarilo", usado solo o como parte de un resto más grande como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo en el sistema es aromático, al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "heteroarilo" puede usarse de manera intercambiable con la expresión "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático". Los ejemplos de anillos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, benzoimidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, N-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, piridazinilo (por ejemplo, 3-piridazinilo), 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, tetrazolilo (por ejemplo, 5-tetrazolilo), triazolilo (por ejemplo, 2-triazolilo y 5-triazolilo), 2-tienilo, 3-tienilo, benzofurilo, benzotiofenilo, indolilo (por ejemplo, 2-indolilo), pirazolilo (por ejemplo, 2-pirazolilo), isotiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, purinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, quinolinilo (por ejemplo, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 4-quinolinilo) e isoquinolinilo (por ejemplo, 1-isoquinolinilo, 3-isoquinolinilo o 4-isoquinolinilo).

- 40 Debe entenderse que el término "heteroarilo" incluye ciertos tipos de anillos heteroarilo que existen en equilibrio entre dos formas diferentes. Más específicamente, por ejemplo, especies, tales como hidropiridina y piridinona (e igualmente hidroxipirimidina y pirimidinona) están destinadas a estar comprendidas dentro de la definición de "heteroarilo".

45



- Las expresiones "grupo de protección" y "grupo protector", como se usan en el presente documento, son intercambiables y se refieren a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más grupos funcionales 50 deseados en un compuesto con múltiples sitios reactivos. En ciertas realizaciones, un grupo protector tiene una o más, o preferentemente todas, de las siguientes características: a) se añade selectivamente a un grupo funcional con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es b) estable a las reacciones que se producen en uno o más de los otros sitios reactivos; y c) puede retirarse selectivamente con buen rendimiento por reactivos que no atacan a los grupos funcionales desprotegidos regenerados. Como entendería un experto en la materia, en algunos 55 casos, los reactivos no atacan otros grupos reactivos del compuesto. En otros casos, los reactivos también pueden reaccionar con otros grupos reactivos en el compuesto. Se detallan ejemplos de grupos protectores en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999 (y otras ediciones del libro). LA expresión "grupo protector de nitrógeno", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos de nitrógeno deseados en un 60 compuesto multifuncional. Los grupos protectores de nitrógeno preferidos también poseen las características

ilustradas para un grupo protector anterior y ciertos grupos protectores de nitrógeno ejemplares también se detallan en el capítulo 7 en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999.

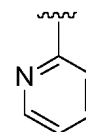
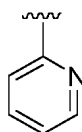
- 5 En algunas realizaciones, una unidad de metileno de un alquilo o cadena alifática está opcionalmente reemplazada por otro átomo o grupo. Los ejemplos de tales átomos o grupos incluyen, pero sin limitación, nitrógeno, oxígeno, azufre,  $-C(O)-$ ,  $-C(=N-CN)-$ ,  $-C(=NR)-$ ,  $-C(=NOR)-$ ,  $-SO-$  y  $-SO_2-$ . Estos átomos o grupos pueden combinarse para formar grupos más grandes. Los ejemplos de tales grupos más grandes incluyen, pero sin limitación,  $-OC(O)-$ ,  $-C(O)CO-$ ,  $-CO_2-$ ,  $-C(O)NR-$ ,  $-C(=N-CN)-$ ,  $-NRCO-$ ,  $-NRC(O)O-$ ,  $-SO_2NR-$ ,  $-NRSO_2-$ ,  $-NRC(O)NR-$ ,  $-OC(O)NR-$  y  $-NRSO_2NR-$ , en el que R es, por ejemplo, H o alifático  $C_{1-6}$ . Debe entenderse que estos grupos pueden unirse a las unidades de metileno de la cadena alifática a través de enlaces sencillos, dobles o triples. Un ejemplo de un reemplazo opcional (átomo de nitrógeno en este caso) que está unido a la cadena alifática a través de un doble enlace sería  $-CH_2CH=N-CH_3$ . En algunos casos, especialmente en el extremo terminal, un reemplazo opcional puede unirse al grupo alifático mediante un triple enlace. Un ejemplo de esto sería  $CH_2CH_2CH_2C\equiv N$ . Debe entenderse que en esta situación, el nitrógeno terminal no está unido a otro átomo.

También debería entenderse que, la expresión "unidad de metileno" también puede referirse a unidades de metileno ramificadas o sustituidas. Por ejemplo, en un resto de isopropilo  $[-CH(CH_3)_2]$ , un átomo de nitrógeno (por ejemplo NR) que reemplaza a la primera "unidad de metileno" recitada daría como resultado dimetilamina  $[-N(CH_3)_2]$ . En casos tales como estos, un experto en la materia entendería que el átomo de nitrógeno no tendrá átomos adicionales unidos a él, y la "R" de "NR" estaría ausente en este caso.

A menos que se indique otra cosa, los reemplazos opcionales forman un compuesto químicamente estable. Los reemplazos opcionales pueden ocurrir dentro de la cadena y/o en cualquier extremo de la cadena; es decir, tanto en el punto de unión y/o también en el extremo terminal. Dos reemplazos opcionales también pueden ser adyacentes entre sí dentro de una cadena, siempre que produzca un compuesto químicamente estable. Por ejemplo, un alifático  $C_3$  puede estar opcionalmente reemplazado por 2 átomos de nitrógeno para formar  $-C-N\equiv N$ . Los reemplazos opcionales también pueden reemplazar completamente todos los átomos en una cadena. Por ejemplo, un alifático  $C_3$  puede reemplazarse opcionalmente por  $-NR-$ ,  $-C(O)-$  y  $-NR-$  para formar  $-NRC(O)NR-$  (una urea).

A menos que se indique otra cosa, si el reemplazo ocurre en el extremo terminal, el átomo de reemplazo está unido a un átomo de hidrógeno en el extremo terminal. Por ejemplo, si una unidad de metileno de  $-CH_2CH_2CH_3$  estuviese reemplazada opcionalmente con  $-O-$ , el compuesto resultante podría ser  $-OCH_2CH_3$ ,  $-CH_2OCH_3$  o  $-CH_2CH_2OH$ . Debe entenderse que si el átomo terminal no contiene ningún electrón de valencia libre, entonces no se requiere un átomo de hidrógeno en el extremo terminal (por ejemplo,  $-CH_2CH_2CH=O$  o  $-CH_2CH_2C\equiv N$ ).

A menos que se indique otra cosa, se pretende que las estructuras representadas en el presente documento incluyan también todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas, geométricas, conformacionales y rotacionales) de las estructuras. Por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (Z) y (E) y los isómeros conformacionales (Z) y (E) están incluidos en esta invención. Como entendería un experto en la materia, un sustituyente puede rotar libremente alrededor de cualquier



enlace giratorio. Por ejemplo, un sustituyente representado como

también representa

Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas, geométricas, conformacionales y rotacionales de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención.

A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención.

En los compuestos de esta invención, cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se indique otra cosa, cuando una posición se designa específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. También a menos que se indique otra cosa, cuando una posición se designa específicamente como "D" o "deuterio", se entiende que la posición tiene deuterio en una abundancia que es al menos 3340 veces mayor que la abundancia natural de deuterio, que es 0,015 % (es decir, al menos una incorporación del 50,1 % de deuterio).

"D" y "d" se refieren ambos a deuterio.

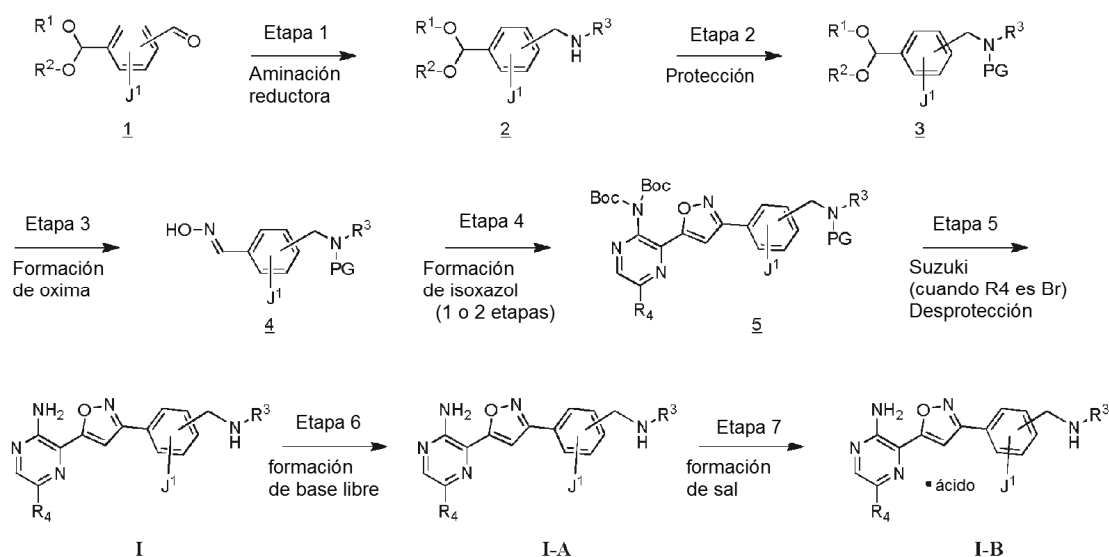
Adicionalmente, a menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento

también pretenden incluir los compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C, están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos.

### Procesos

Los procesos y compuestos descritos en el presente documento son útiles para producir inhibidores de ATR que contienen un núcleo de aminopirazina-isoxazol. Los procedimientos sintéticos generales mostrados en los esquemas en el presente documento son útiles para general una amplia gama de especies químicas que pueden utilizarse en la fabricación de compuestos farmacéuticos.

### ESQUEMA A



#### Etapa 1

El compuesto de fórmula I puede prepararse de acuerdo con las etapas indicadas en el Esquema A. La Etapa 1 representa el uso de un aldehído/cetal fácilmente disponible como punto de partida para la preparación de compuestos de fórmula I, I-A y I-B. La aminación reductora entre el compuesto 1 y una amina primaria adecuada, en condiciones conocidas por los expertos en la técnica conduce al compuesto 2 donde se ha instalado un motivo de bencilamina. Por ejemplo, pueden formarse iminas combinando una amina y un aldehído en un disolvente adecuado, tal como diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), un disolvente alcohólico (por ejemplo, metanol, etanol) o un disolvente no prótico (por ejemplo, dioxano o tetrahidrofurano (THF)). Después, estas iminas pueden reducirse mediante agentes de reducción conocidos, incluyendo, pero sin limitación, NaBH<sub>4</sub>, NaBH<sub>3</sub>CN y NaBH(OAc)<sub>3</sub> (véase documento JOC 1996, 3849). En algunas realizaciones, se combinan 1,05 equivalentes de amina con 1 equivalente de aldehído en metanol. En otras realizaciones, se combinan 1,2 equivalentes de amina con 1 equivalente de aldehído en metanol. Después, esta etapa se sigue de reducción con 0,6 a 1,4 (tal como 1,2) equivalentes de NaBH<sub>4</sub>. En algunos casos, si se usa una sal de amina, también puede añadirse base (por ejemplo, Et<sub>3</sub>N o diisopropiletilamina).

#### Etapa 2

La Etapa 2 representa la protección de la bencilamina preparada anteriormente, usando un grupo protector basado en carbamato, en condiciones de protección adecuadas conocidas para los expertos en la técnica. Diversos grupos protectores, tales Cbz y Boc, pueden utilizarse. Las condiciones de protección incluyen, pero sin limitación, las siguientes:

- R-OCOCl, una base de amina terciaria adecuada y un disolvente adecuado; en el que R es alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido con fenilo;
- R(CO<sub>2</sub>)OR', un disolvente adecuado y opcionalmente una cantidad catalítica de base, en el que R y R' son cada uno independientemente alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido con fenilo;
- [RO(C=O)]<sub>2</sub>O, una base adecuada y un disolvente adecuado.

Los ejemplos de bases adecuadas incluyen, pero sin limitación, Et<sub>3</sub>N, diisopropilamina y piridina. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo), éteres (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos) y otros disolventes apróticos.

5 En algunas realizaciones, la protección puede realizarse haciendo reaccionar la bencilamina con (Boc)<sub>2</sub>O y Et<sub>3</sub>N en DCM. En algunas realizaciones, se utilizan 1,02 equivalentes de (Boc)<sub>2</sub>O y 1,02 equivalentes de Et<sub>3</sub>N 1,02. En otra realización, la protección puede realizarse haciendo reaccionar la bencilamina con (Boc)<sub>2</sub>O en 2-MeTHF. En algunas realizaciones, se utilizan 1,05 equivalentes de (Boc)<sub>2</sub>O.

### 10 Etapa 3

La Etapa 3 muestra cómo se convierte después el grupo funcional cetal en 3 en la oxima 4 en una sola etapa. Esta conversión directa de cetal en oxima no se describe extensamente en la bibliografía y se apreciará que esta etapa también podría realizarse en una secuencia de dos etapas, transitando a través del aldehído después de desprotección del cetal usando metodologías conocidas para los expertos en la materia.

20 Las condiciones de formación de oxima comprenden mezclar juntos hidroxilamina, ácido, opcionalmente un agente de deshidratación y un disolvente alcohólico. En algunas realizaciones, el ácido es una cantidad catalítica. En algunas realizaciones, el ácido es pTSA o HCl, el agente de deshidratación es tamices moleculares o dimetoxiacetona, y el disolvente alcohólico es metanol o etanol. En algunas realizaciones, se usa el clorhidrato de hidroxilamina, en cuyo caso no se requiere ningún ácido adicional. En otras realizaciones, el producto deseado se aísla a través de un tratamiento bifásico y opcionalmente precipitación o cristalización. Si se utiliza un tratamiento bifásico, no se necesita ningún agente de deshidratación.

25 En otra realización, las condiciones de formación de oxima consisten en mezclar juntos hidroxilamina, un ácido, un disolvente orgánico y agua. Los ejemplos de disolventes orgánicos adecuados incluyen disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo), éteres (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos) y otros disolventes apróticos. En algunas realizaciones, se utilizan 1,5 equivalentes de clorhidrato de hidroxilamina, el disolvente orgánico es 2-MeTHF y el agua está tamponada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. En otra realización, se utilizan 1,2 equivalentes de clorhidrato de hidroxilamina, el disolvente orgánico es THF.

35 En algunas realizaciones, las condiciones de desprotección adecuadas comprenden añadir cantidades catalíticas de ácido para-toluenosulfónico (pTSA), acetona y agua; y después formar la oxima usando condiciones conocidas para un experto en la materia. En otras realizaciones, se utiliza una secuencia de una sola etapa. En algunas realizaciones, la secuencia de una sola etapa comprende añadir NH<sub>2</sub>OH.HCl y una mezcla de THF y agua. En algunas realizaciones, se combina 1 equivalente del compuesto de fórmula 3 con 1,1 equivalentes de NH<sub>2</sub>OH.HCl en una mezcla 10:1 v/v de THF/agua.

### 40 Etapa 4

La Etapa 4 ilustra cómo se transforma después la oxima 4 y se involucra en una cicloadición [3+2] para el isoxazol 5. Esta transformación puede realizarse en un solo recipiente pero requiere dos etapas distintas. Esta primera etapa es una oxidación del grupo funcional oxima en una nitrona, o un intermedio similar con el mismo grado de oxidación, por ejemplo una clorooxima. Después, esta especie reactiva reacciona con un alquino en una cicloadición [3+2] para formar el aducto de isoxazol.

50 En algunas realizaciones, las condiciones de formación de isoxazol adecuadas consisten en dos etapas, comprendiendo la primera etapa hacer reaccionar el compuesto de fórmula 4 en condiciones de formación de clorooxima adecuadas para formar un intermedio de clorooxima; comprendiendo la segunda etapa hacer reaccionar el intermedio de clorooxima con acetileno en condiciones de cicloadición adecuadas para formar un compuesto de fórmula 5.

55 En algunas realizaciones, las condiciones de formación de clorooxima se seleccionan entre

- a) N-clorosuccinimida y un disolvente adecuado;
- b) peroximonosulfato potásico, HCl y dioxano; y
- c) Hipoclorito sódico y un disolvente adecuado

60 Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, disolventes no próticos (por ejemplo, DCM, DCE, THF, 2-MeTHF, MTBE y dioxano), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos) y acetatos de alquilo (por ejemplo, acetato de isopropilo, acetato de etilo).

65 El aislamiento del producto puede alcanzarse añadiendo un antidisolvente a una solución de un compuesto de fórmula 5. Los ejemplos de disolventes adecuados para aislar el intermedio de clorooxima incluyen mezclas de



disolventes adecuados (EtOAc, IPAC) con hidrocarburos (por ejemplo, hexanos, heptano, ciclohexano) o hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos). En algunas realizaciones, se añade heptano a una solución de clorooxima en IPAC.

- 5 Las condiciones de cicloadición adecuadas consisten en combinar la clorooxima con acetileno con una base adecuada y un disolvente adecuado. Los disolventes adecuados incluyen disolventes próticos, disolventes apróticos, disolventes polares y disolventes no polares. Los ejemplos de un disolvente adecuado incluyen, pero sin limitación, acetonitrilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, MTBE, EtOAc, i-PrOAc, DCM, tolueno, DMF y metanol. Las bases adecuadas incluyen, pero sin limitación, piridina, DIEA, TEA, t-BuONa y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, las
- 10 condiciones de cicloadición adecuadas comprenden añadir 1,0 equivalentes de clorooxima, 1,0 equivalentes de acetileno, 1,1 equivalentes de Et<sub>3</sub>N en DCM.

- El aislamiento del producto puede alcanzarse añadiendo un antidisolvente a una solución de un compuesto de fórmula 5. Los ejemplos de disolventes adecuados para aislar la clorooxima incluyen mezclas de disolventes adecuados (EtOAc, IPAC) con hidrocarburos (por ejemplo, hexanos, heptano, ciclohexano) o hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos). En algunas realizaciones, se añade heptano a una solución de clorooxima en IPAC.
- 15

#### Etapa 5

20

- La Etapa 5 representa la etapa o etapas finales de la preparación de compuestos de fórmula I. Cuando el grupo R<sub>4</sub> es bromo, el intermedio 5 puede someterse a acoplamiento cruzado de Suzuki ácido o ésteres borónicos, en condiciones conocidas por los expertos en la materia, para formar compuestos donde R<sub>4</sub> es un arilo, heteroarilo o restos alternativos resultantes de la reacción de acoplamiento asistida por metal. Cuando el intermedio 5 se
- 25 funcionaliza adecuadamente, puede realizarse una etapa de desprotección para retirar los grupos protectores y generar los compuestos de fórmula I.

- Las reacciones de acoplamiento asistidas por metal son conocidas en la técnica (véase por ejemplo, Org.Proc. Res. Dev. 2010, 30-47). En algunas realizaciones, las condiciones de acoplamiento adecuadas comprenden añadir 0,1 equivalentes de Pd[P(tBu)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>; 1 equivalente de ácido o éster borónico; y 2 equivalentes de carbonato sódico en una proporción 2:1 v/v de acetonitrilo/agua a 60-70 °C. En otras realizaciones, las condiciones de acoplamiento adecuadas comprenden añadir 0,010-0,005 equivalentes de Pd(dtbpf)Cl<sub>2</sub>, 1 equivalente de ácido o éster borónico y 2 equivalentes de carbonato potásico en 7:2 v/v de tolueno y agua a 70 °C.
- 30

- El producto final puede tratarse con un eliminador de metales (gel de sílice, resinas fucionalizadas, carbón vegetal) (véase por ejemplo, Org. Proc. Res. Dev. 2005, 198-205). En algunas realizaciones, la solución del producto se trata con resina Biotage MP-TMT.
- 35

- El producto también puede aislarse mediante cristalización en un disolvente alcohólico (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol). En algunas realizaciones, el disolvente es etanol. En otras realizaciones, el disolvente es isopropanol.
- 40

- La desprotección de grupos Boc es conocida en la técnica (véase, por ejemplo Protecting Groups in Organic Synthesis, Greene y Wuts). En algunas realizaciones, las condiciones de desprotección adecuadas son ácido clorhídrico en acetona a 35-45 °C. En otras realizaciones, las condiciones de desprotección adecuadas son TFA en DCM.
- 45

#### Etapa 6

50

- La Etapa 6 ilustra cómo se convierten los compuestos de fórmula I en compuestos de fórmula I-A usando una base en condiciones adecuadas conocidas para los expertos en la materia. En algunas realizaciones, el aislamiento de la forma de base libre de compuestos de fórmula I puede conseguirse añadiendo una base adecuada, tal como NaOH a una solución ácida alcohólica de compuestos de fórmula I para precipitar el producto.

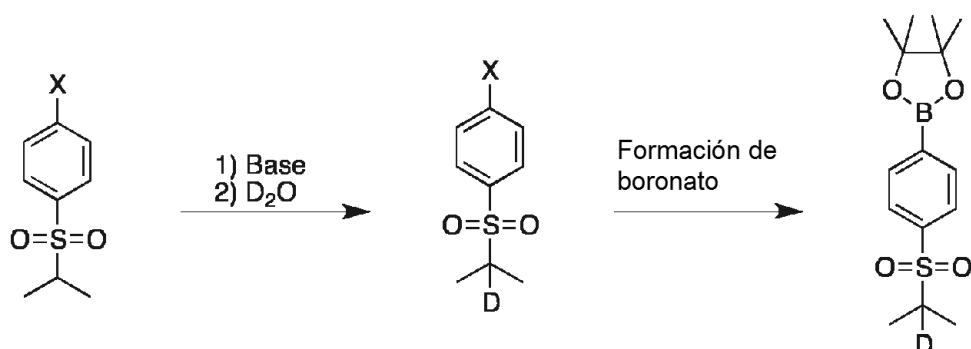
#### Etapa 7

55

- La Etapa 7 ilustra cómo se convierten compuestos de fórmula I-A en compuestos de fórmula I-B usando un ácido en condiciones adecuadas conocidas para los expertos en la materia.

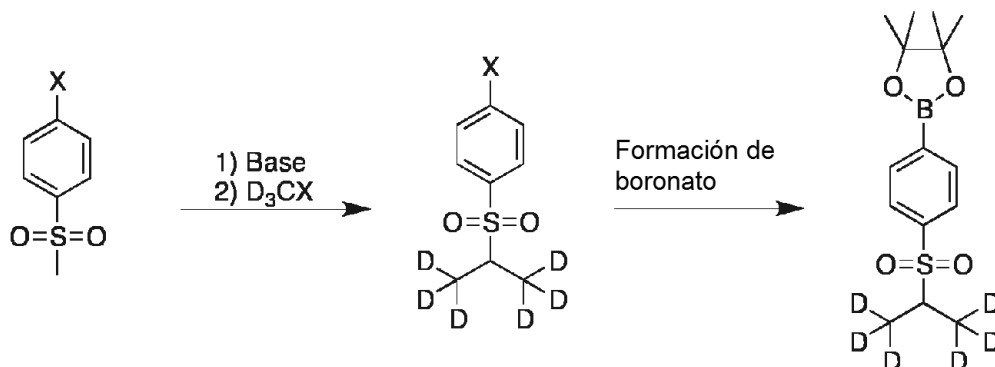
- En algunas realizaciones, las condiciones adecuadas implican añadir HCl acuoso a una suspensión de compuestos de fórmula I-A en acetona a 35 °C, calentando después a 50 °C.
- 60

### ESQUEMA B: Formación de d1-boronato



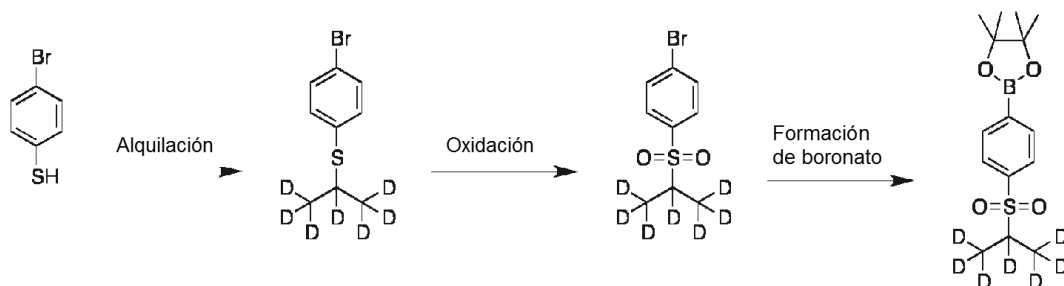
El Esquema B muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de d1-boronato. Un 1-halo-(isopropilsulfonyl)benzeno adecuado se trata con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como D<sub>2</sub>O. Después, el halógeno se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM.

#### ESQUEMA C: Formación de d6-boronato



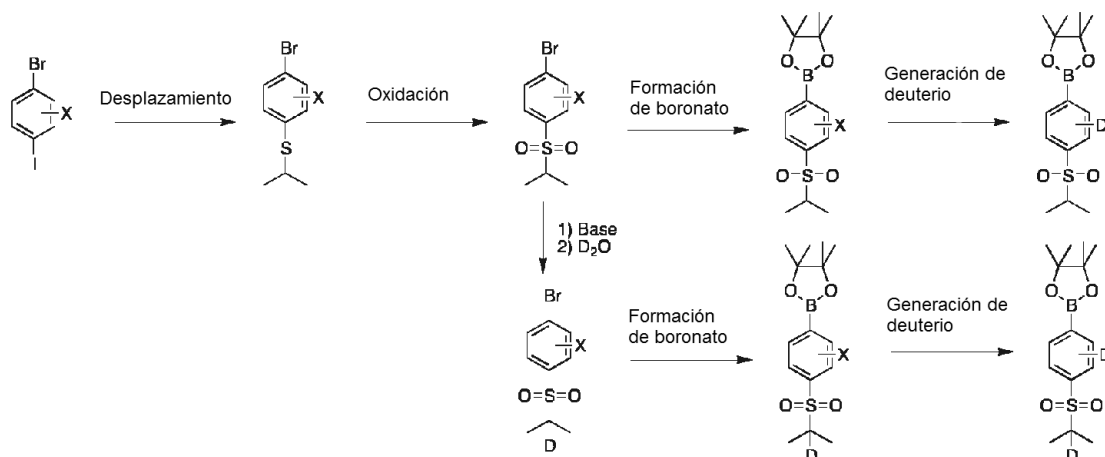
El Esquema C muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de d6-boronato. Un 1-halo-(metilsulfonyl)benzeno adecuado se trata con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como D<sub>3</sub>Cl. Esta reacción se repite hasta que se ha incorporado la cantidad deseada de deuterio en la molécula. Después, el halógeno se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM.

#### ESQUEMA D: Formación de d7-boronato



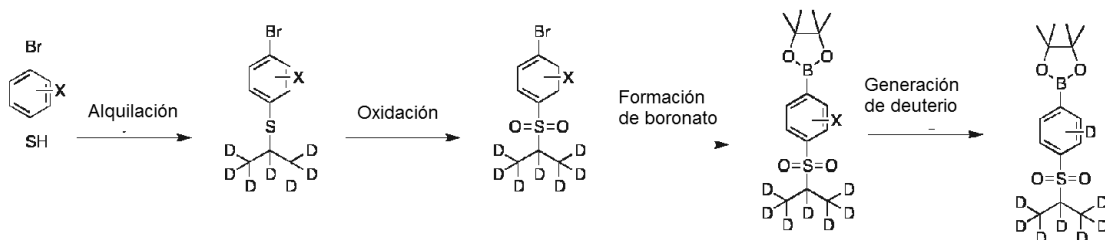
El Esquema D muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de d7-boronato. Se trata 4-bromobenzenotiol con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como 1,1,1,2,3,3,3-heptadeuterio-2-yodo-propano. Después, el sulfuro se oxida para dar la sulfona correspondiente utilizando, por ejemplo, mCPBA u Oxona. Después, el halógeno se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM.

#### ESQUEMA E: Formación de boronato deuterado del anillo arilo



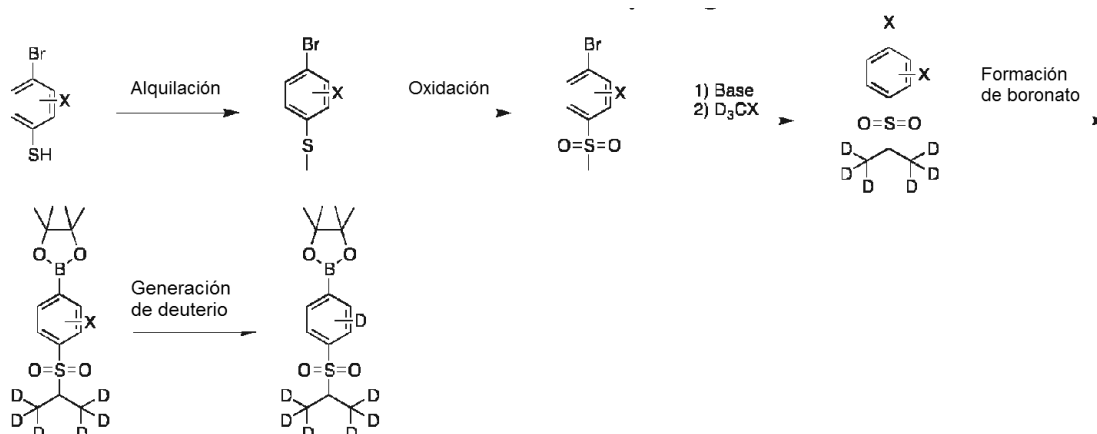
5 El Esquema E muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de boronato donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. Un derivado de 1-yodo-4-bromo-arilo adecuado se trata con un tiol sustituido, tal como propano-2-tiol, en condiciones de acoplamiento catalizado por metal usando un catalizador, tal como CuI. Después, el sulfuro se oxida para dar la sulfona correspondiente utilizando, por ejemplo, mCPBA u Oxona. Después, el bromuro se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM. Después, el sustituyente restante se convierte en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd en C en una atmósfera de gas de deuterio. Además, el 1-bromo-(isopropilsulfonyl)benzeno puede tratarse con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como D<sub>2</sub>O. Después, el bromuro se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM. Después, el sustituyente restante se convierte en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd en C en una atmósfera de gas de deuterio.

20 **ESQUEMA F: Formación de boronato deuterado del anillo arilo**



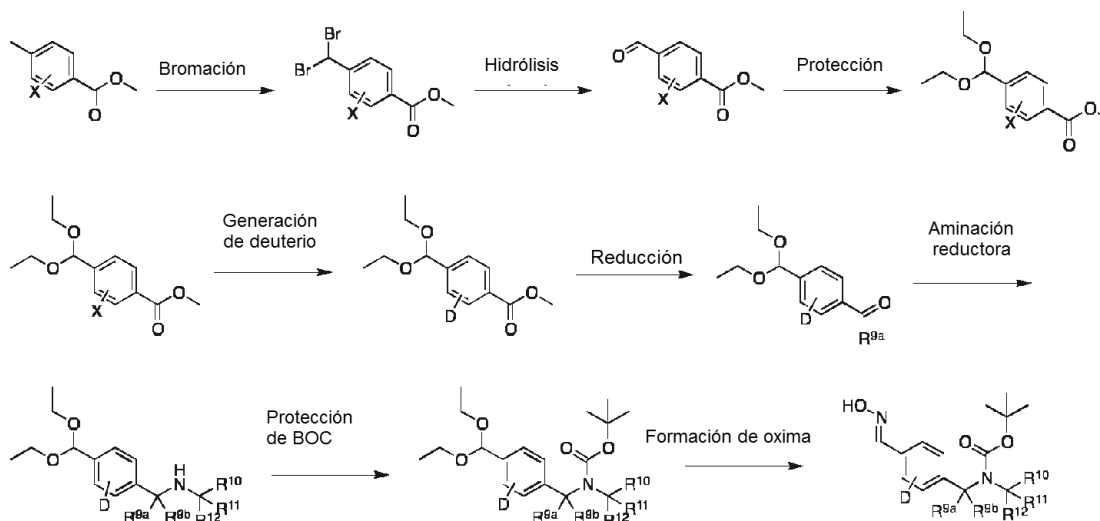
25 El Esquema F muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de boronato donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. Un 4-bromobenzenotiol sustituido se trata con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como 1,1,1,2,3,3,3-heptadeuterio-2-yodo-propano. Después, el sulfuro se oxida para dar la sulfona correspondiente utilizando, por ejemplo, mCPBA u Oxona. Después, el halógeno se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM. Después, el sustituyente restante se convierte en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd en C en una atmósfera de gas de deuterio.

30 **ESQUEMA G: Formación de boronato deuterado del anillo arilo**



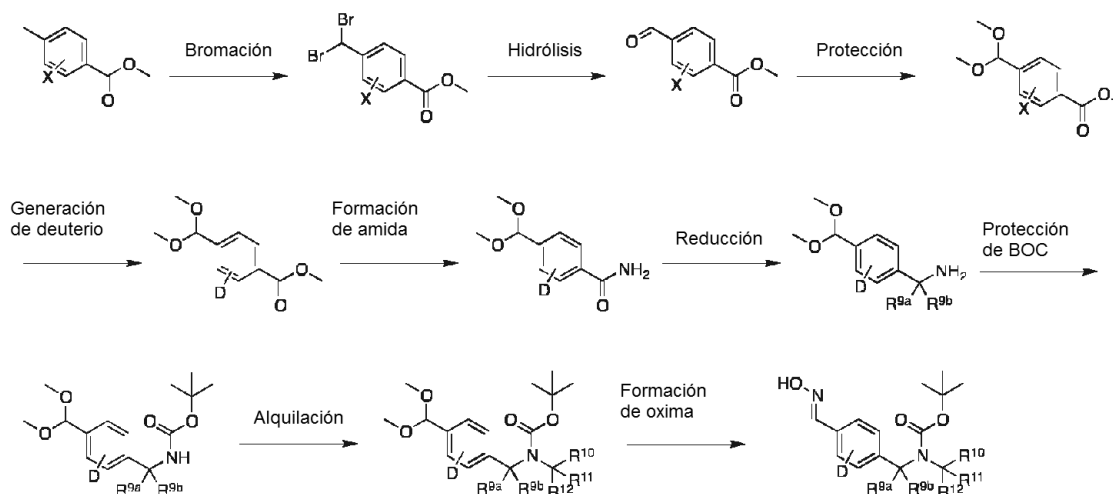
El Esquema G muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de boronato donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. Un 4-bromobenzenotiol sustituido se trata con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con, por ejemplo, MeI. Después, el sulfuro se oxida para dar la sulfona correspondiente utilizando, por ejemplo, mCPBA u Oxona. La sulfona se trata con una base, tal como, pero sin limitación, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como D<sub>3</sub>Cl. Esta reacción se repite hasta que se ha incorporado la cantidad deseada de deuterio en la molécula. Después, el halógeno se transforma en un derivado de boronato adecuado mediante, por ejemplo, acoplamiento cruzado mediado por metal, catalizado por, por ejemplo, Pd(<sup>t</sup>Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> DCM. Después, el sustituyente restante se convierte en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd en C en una atmósfera de gas de deuterio.

**ESQUEMA H: Formación de intermedios de oxima deuterada del anillo arilo**



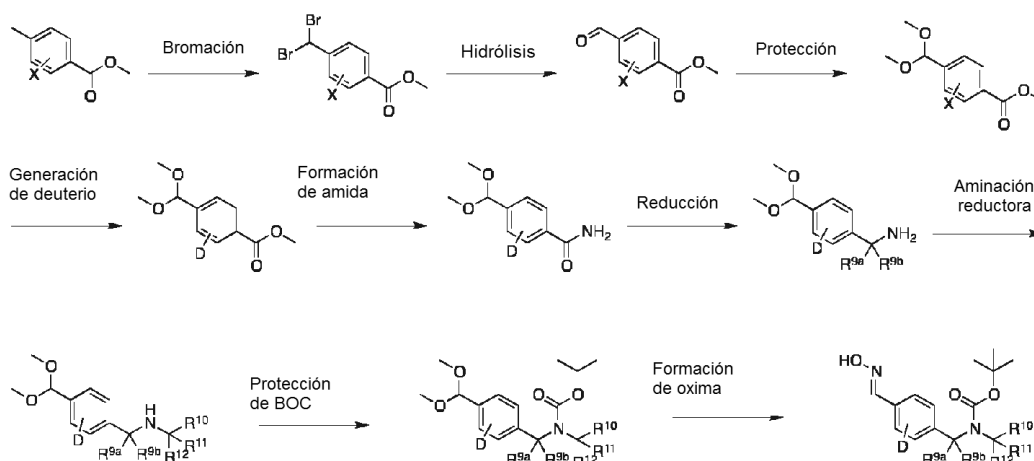
El Esquema H muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de oxima donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. El grupo metilo de un derivado de 4-metilbenzoato de metilo adecuadamente sustituido puede convertirse en el dibromuro correspondiente en condiciones, tales como bromación catalizada por AIBN con NBS. Después, este di-bromuro se hidroliza en el aldehído correspondiente, por ejemplo usando AgNO<sub>3</sub> en acetona/agua. La protección del aldehído como un acetal adecuado, por ejemplo el dietil acetal, y la posterior conversión del sustituyente restante en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd sobre C en una atmósfera de gas de deuterio, da el intermedio de éster deuterado. La funcionalidad de éster puede reducirse usando reactivos, tales como LiAlH<sub>4</sub>, NaBH<sub>4</sub>, NaBD<sub>4</sub> o LiAlD<sub>4</sub> para dar el aldehído correspondiente. Esto puede hacerse reaccionar en condiciones de aminación reductora usando una amina adecuada, tal como metilamina o d<sub>3</sub>-metilamina usando un agente reductor, tal como NaBH<sub>4</sub> o NaBD<sub>4</sub> para dar el derivado de amina correspondiente. Esto puede protegerse con, por ejemplo, un grupo Boc y el acetal convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.

**ESQUEMA I: Formación de intermedios de oxima deuterada del anillo arilo**



- 5 El Esquema I muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. El grupo metilo de un derivado de 4-metilbenzoato de metilo adecuadamente sustituido puede convertirse en el dibromuro correspondiente en condiciones, tales como bromación catalizada por AIBN con NBS. Después, este di-bromuro se hidroliza en el aldehído correspondiente, por ejemplo usando  $\text{AgNO}_3$  en acetona/agua. La protección del aldehído como un acetal adecuado, por ejemplo el dimetil acetal, y posterior conversión del sustituyente restante en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd sobre C en una atmósfera de gas de deuterio, da el intermedio de éster deuterado. La funcionalidad de éster puede convertirse en la amida primaria correspondiente en condiciones convencionales, tales como calentamiento con una solución de amoníaco en metanol. La amida puede reducirse a la amina correspondiente usando reactivos no limitados a  $\text{LiAlH}_4$  o  $\text{LiAlD}_4$ . Esto puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc. El carbamato NH puede alquilarse en condiciones básicas usando por ejemplo NaH,  $\text{LiHMDS}$  o  $\text{KHMDS}$ , seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como MeI o  $\text{D}_3\text{Cl}$ . El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.
- 10
- 15

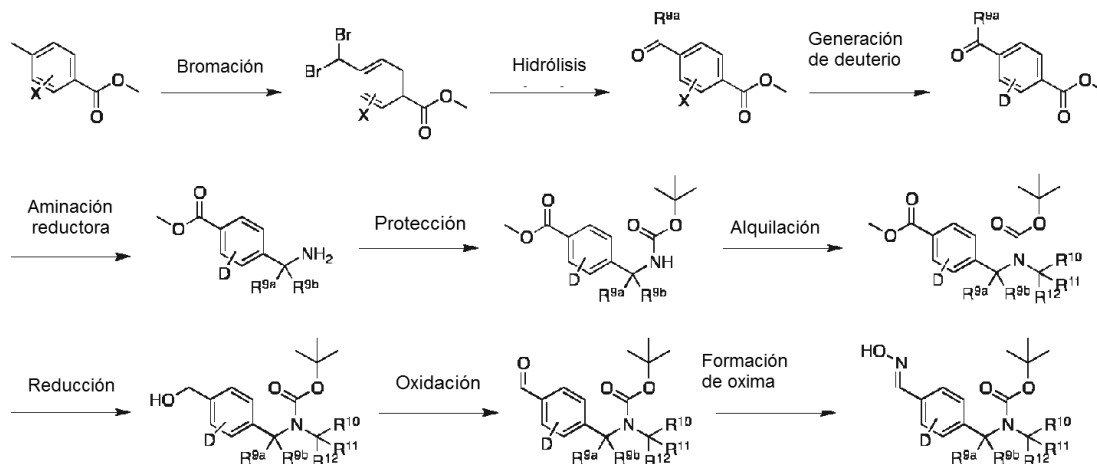
**ESQUEMA J: Formación de intermedios de oxima deuterada del anillo arilo**



- 20
- 25 El Esquema J muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. El grupo metilo de un derivado de 4-metilbenzoato de metilo adecuadamente sustituido puede convertirse en el dibromuro correspondiente en condiciones, tales como bromación catalizada por AIBN con NBS. Después, este di-bromuro se hidroliza en el aldehído correspondiente, por ejemplo usando  $\text{AgNO}_3$  en acetona/agua. La protección del aldehído como un acetal adecuado, por ejemplo el dimetil acetal, y posterior conversión del sustituyente restante en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd sobre C en una atmósfera de gas de deuterio, da el intermedio de éster deuterado. La funcionalidad de éster puede convertirse en la amida primaria correspondiente en condiciones convencionales, tales como calentamiento con una solución de amoníaco en metanol. La amida puede reducirse a la amina correspondiente usando reactivos no limitados a  $\text{LiAlH}_4$  o  $\text{LiAlD}_4$ . Esto puede hacerse reaccionar en condiciones de aminación reductora usando una amina adecuada, tal como metilamina,  $\text{d}_3$ -
- 30

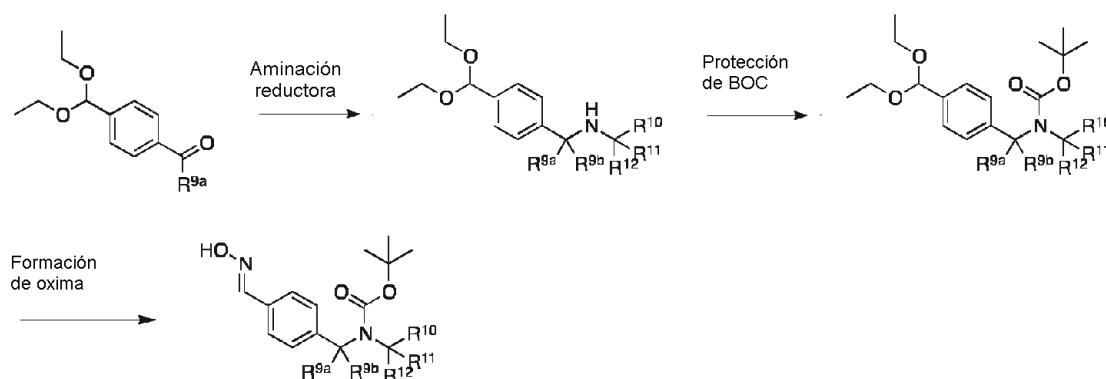
metilamina, formaldehído o d2-formaldehído usando un agente reductor, tal como NaBH<sub>4</sub> o NaBD<sub>4</sub>, para dar el derivado de amina correspondiente. Esto puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc. El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.

5 **ESQUEMA K: Formación de intermedios de oxima deuterada del anillo arilo**



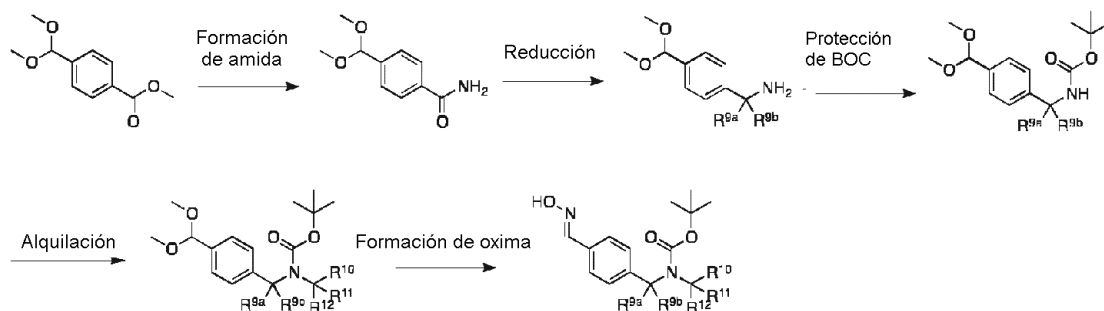
10 El Esquema K muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima donde el anillo arilo está sustituido con un deuterio. El grupo metilo de un derivado de 4-metilbenzoato de metilo adecuadamente sustituido puede convertirse en el dibromuro correspondiente en condiciones, tales como bromación catalizada por AIBN con NBS. Después, este di-bromuro se hidroliza en el aldehído correspondiente, por ejemplo usando AgNO<sub>3</sub> en acetona/agua. La protección del aldehído como un acetal adecuado, por ejemplo el dimetil acetal, y posterior conversión del sustituyente restante en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd sobre C en una atmósfera de gas de deuterio, da el intermedio de éster deuterado. Esto puede hacerse reaccionar en condiciones de aminación reductora usando una amina adecuada, tal como hidróxido de amonio, usando un agente reductor, tal como NaBH<sub>4</sub> o NaBD<sub>4</sub>, para dar el derivado de amina correspondiente. Esto puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc y el carbamato NH alquilado en condiciones básicas usando, por ejemplo, NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como MeI o D<sub>3</sub>Cl. El éster puede reducirse al alcohol correspondiente usando un agente reductor adecuado, tal como LiBH<sub>4</sub> o NaBH<sub>4</sub>. El alcohol puede oxidarse al aldehído usando reactivos, tales como MnO<sub>2</sub> o peryodinano de Dess-Martin. El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, hidroxilamina acuosa.

25 **ESQUEMA L: Formación de intermedios de oxima deuterada**



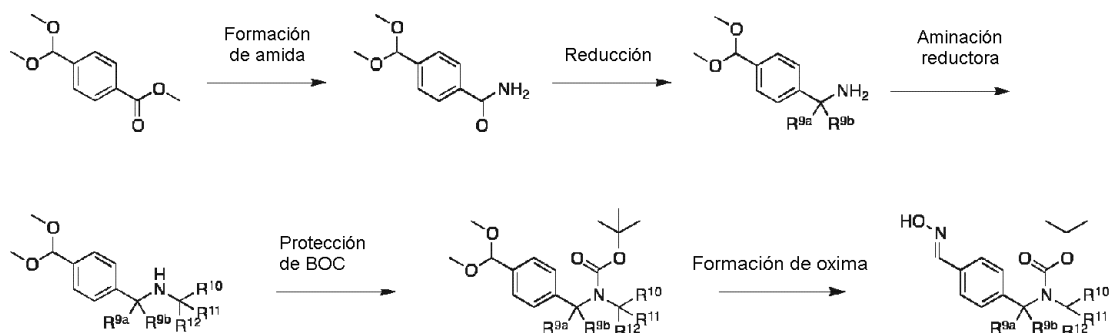
30 El Esquema L muestra un método sintético general para la preparación de intermedios de oxima deuterada. Puede hacerse reaccionar 4-(dietoximetil)benzaldehído en condiciones de aminación reductora usando una amina adecuada, tal como metilamina o d3-metilamina usando un agente reductor, tal como NaBH<sub>4</sub> o NaBD<sub>4</sub> para dar el derivado de amina correspondiente. Esto puede protegerse con, por ejemplo, un grupo Boc y el acetal convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.

35 **ESQUEMA M: Formación de intermedios de oxima deuterada**



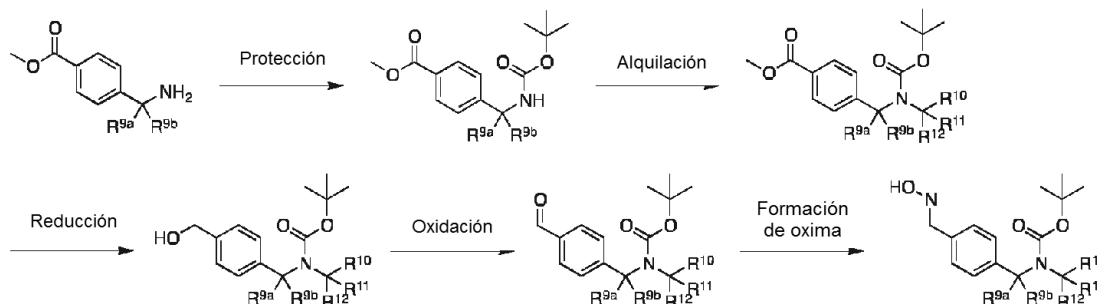
El Esquema M muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima deuterada. La funcionalidad de éster de 4-(dimetoximetil)benzoato de metilo puede convertirse en la amida primaria correspondiente en condiciones convencionales, tales como calentamiento con una solución de amoníaco en metanol. La amida puede reducirse a la amina correspondiente usando reactivos no limitados a LiAlH<sub>4</sub> o LiAlD<sub>4</sub>. Esto puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc. El carbamato NH puede alquilarse en condiciones básicas usando por ejemplo NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como MeI o D<sub>3</sub>Cl. El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.

**ESQUEMA N: Formación de intermedios de oxima deuterada**



El Esquema N muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima deuterada. La funcionalidad de éster de 4-(dimetoximetil)benzoato de metilo puede convertirse en la amida primaria correspondiente en condiciones convencionales, tales como calentamiento con una solución de amoníaco en metanol. La amida puede reducirse a la amina correspondiente usando reactivos no limitados a LiAlH<sub>4</sub> o LiAlD<sub>4</sub>. Esto puede hacerse reaccionar en condiciones de aminación reductora usando una amina adecuada, tal como metilamina, d<sub>3</sub>-metilamina, formaldehído o d<sub>2</sub>-formaldehído usando un agente reductor, tal como NaBH<sub>4</sub> o NaBD<sub>4</sub>, para dar el derivado de amina correspondiente. Esto puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc. El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, clorhidrato de hidroxilamina en THF/agua.

**ESQUEMA O: Formación de intermedios de oxima deuterada**

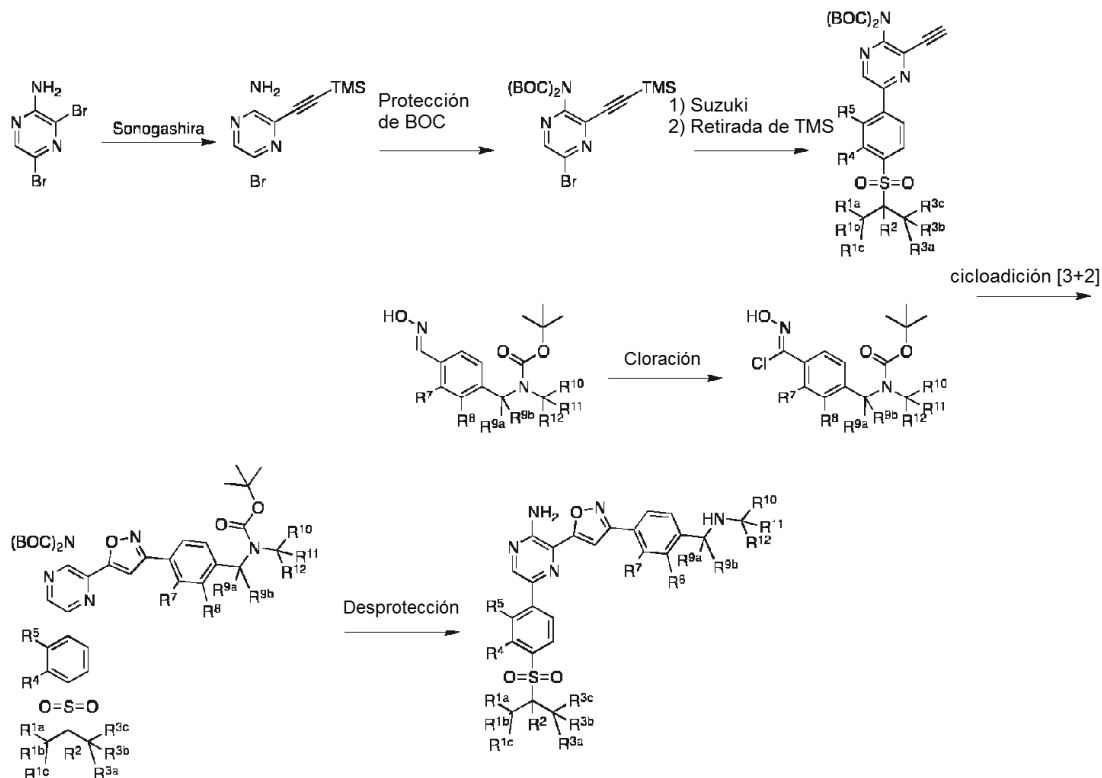


El Esquema O muestra otro método sintético general para la preparación de intermedios de oxima deuterada. Una bencilmina 4-sustituida puede protegerse con, por ejemplo un grupo Boc. El carbamato NH puede alquilarse en condiciones básicas usando por ejemplo NaH, LiHMDS o KHMDS, seguido de inactivación del anión con una fuente de deuterio, tal como MeI o D<sub>3</sub>Cl. El éster puede reducirse al alcohol correspondiente usando un agente reductor

adecuado, tal como  $\text{LiBH}_4$  o  $\text{NaBH}_4$ . El alcohol puede oxidarse al aldehído usando reactivos, tales como  $\text{MnO}_2$  o peryodinano de Dess-Martin. El acetal puede convertirse en la oxima usando, por ejemplo, hidroxilamina acuosa.

### ESQUEMA P: Formación de derivados de isoxazol

5

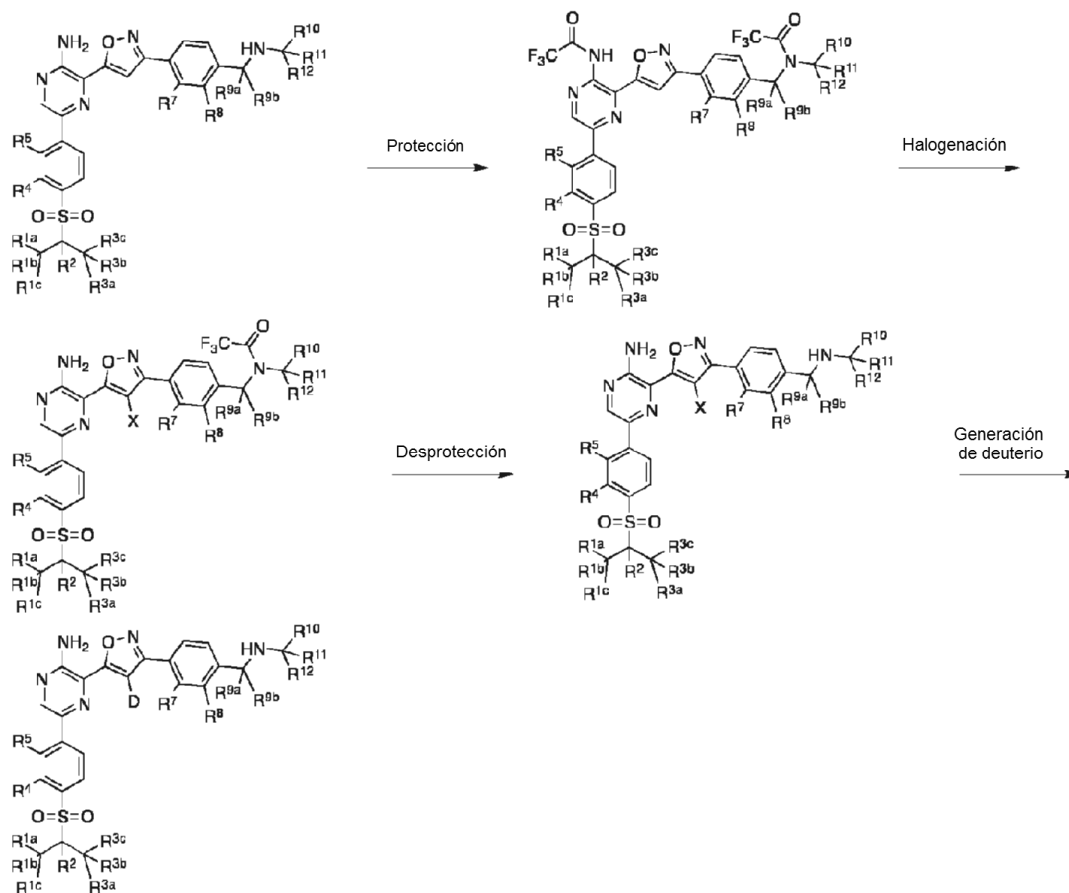


El Esquema P muestra un método sintético general para la preparación de derivados deuterados de pirazina-isoxazol. Se convierte 3,5-dibromopirazina-2-amina en el alquino protegido con sililo correspondiente en condiciones de Sonogashira convencionales utilizando, por ejemplo,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  y  $\text{CuI}$  como catalizador. Después, la pirazina  $\text{NH}_2$  puede protegerse como, por ejemplo, el derivado de di-Boc. El acoplamiento del bromuro de pirazina con un boronato, por ejemplo aquellos indicados en los Esquemas 1 a 6 anteriores, en condiciones de acoplamiento cruzado de Suzuki convencionales, seguido de la retirada del grupo protector de sililo da el intermedio de alquino deseado. Las oximas, tales como las indicadas en los Esquemas 7 a 14 anteriores, pueden convertirse en las clorooximas correspondientes usando, por ejemplo,  $\text{NCS}$ . Los intermedios de alquino y clorooxima pueden someterse a una cicloadición [3+2] para dar el isoxazol correspondiente en condiciones convencionales, por ejemplo mediante la adición de  $\text{Et}_3\text{N}$ . Los grupos protectores Boc pueden retirarse en condiciones ácidas, tales como TFA en  $\text{DCM}$  o  $\text{HCl}$  en  $\text{MeOH}/\text{DCM}$  para dar los derivados deuterados de pirazina isoxazol.

20

### ESQUEMA Q: Formación de derivados de isoxazol deuterados





El Esquema Q muestra un método sintético general para la preparación de derivados de isoxazol deuterados. La pirazina NH<sub>2</sub> y bencilaminamina NH puede protegerse en condiciones convencionales usando anhídrido trifluoroacético. La halogenación del anillo isoxazol con, por ejemplo, NIS, seguido de la retirada del grupo protector de trifluoroacetato en condiciones básicas proporciona los intermedios halogenados deseados. Después, el halógeno puede convertirse en deuterio mediante, por ejemplo, intercambio de halógeno-deuterio catalizado por metal usando un catalizador de metal adecuado, tal como Pd en C en una atmósfera de gas de deuterio.

## 10 Abreviaturas

Se usan las siguientes abreviaturas:

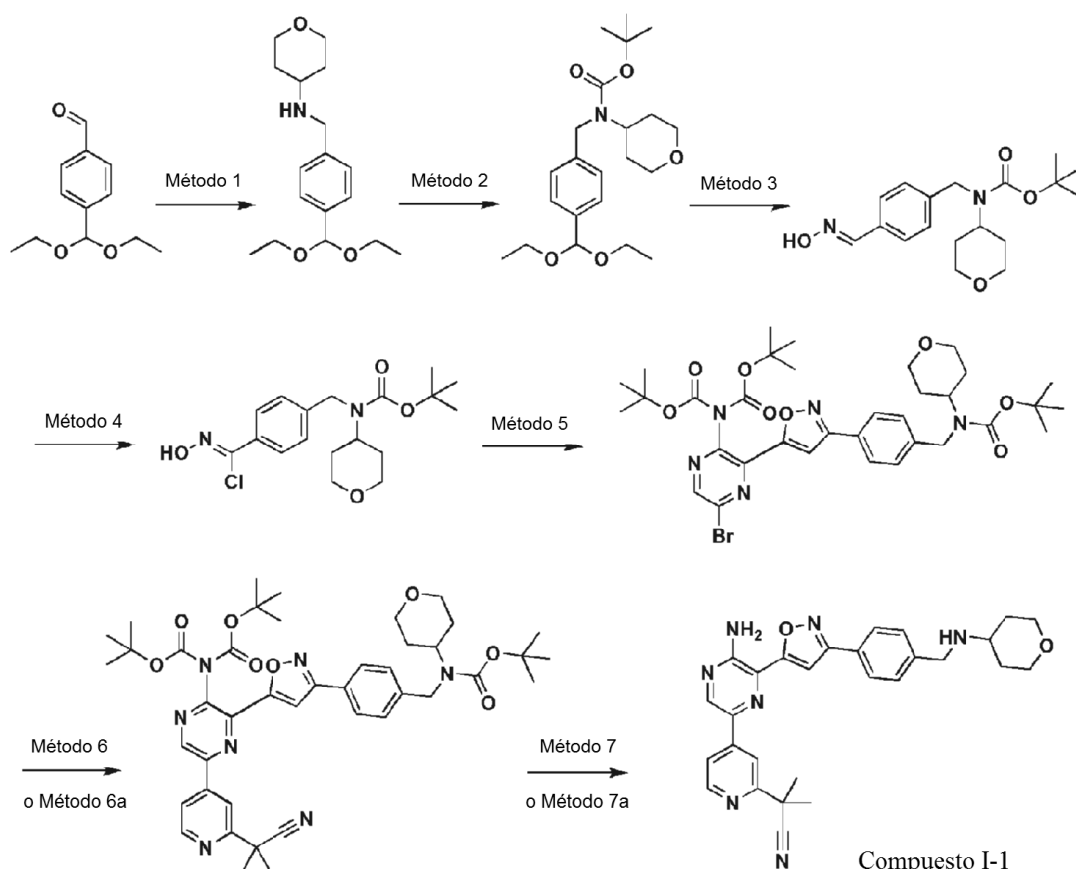
ATP	trifosfato de adenosina
Boc	carbamato de <i>tert</i> -butilo
Cbz	Carboxibencilo
DCM	diclorometano
DMSO	dimetilsulfóxido
Et3N	trietilamina
2-MeTHF	2-metiltetrahidrofurano
NMM	N-Metil morfolina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
TMS	Trimetilsililo
MTBE	metil <i>tert</i> -butil éter
EtOAc	acetato de etilo
<i>i</i> -PrOAc	acetato de isopropilo
IPAC	acetato de isopropilo
DMF	dimetilformamida
DIEA	diisopropiletilamina
TEA	trietilamina
<i>t</i> -BuONa	<i>tert</i> -butóxido sódico

K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonato potásico
PG	Grupo protector
pTSA	ácido para-toluenosulfónico
TBAF	Fluoruro de tetra-n-butilamonio
RMN <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear de protón
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
CLEM	cromatografía líquida-espectrometría de masas
TLC	cromatografía de capa fina
Tr	tiempo de retención

### ESQUEMAS Y EJEMPLOS

Los compuestos de la divulgación pueden prepararse a la luz de la memoria descriptiva usando etapas generalmente conocidas por los expertos en la materia. Los compuestos pueden analizarse mediante procedimientos conocidos, que incluyen, pero sin limitación CLEM (espectrometría de masas cromatografía líquida) y RMN (resonancia magnética nuclear). Los siguientes esquemas genéricos y ejemplos ilustran cómo preparar los compuestos de la presente divulgación. Los ejemplos son únicamente a modo de ilustración y no deben interpretarse como limitantes del ámbito de la invención de ningún modo. Los espectros de RMN <sup>1</sup>H se registraron a 400 MHz usando un instrumento Bruker DPX 400. Las muestras de espec. de masas se analizaron en un espectrómetro de masas MicroMass Quattro Micro operado en modo EM único con ionización por electronebulización.

#### Ejemplo 1: Síntesis de 2-(4-(5-amino-6-(3-(4-((tetrahidro-2H-piran-4-ilamino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)piridin-2-il)-2-metilpropanonitrilo (Compuesto I-1)



#### Método 1:

20 A una solución de tetrahidropiran-4-amina (100 g, 988,7 mmol) en MeOH (3,922 l) se añadió 4-(diethoximetil)benzaldehído (196,1 g, 941,6 mmol) durante 2 min a TA. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 80 min, hasta que se completó la formación de aldimina (como se vio por RMN). Se añadió cuidadosamente NaBH<sub>4</sub> (44,49 g, 1,176 mol) durante 45 min, manteniendo la temperatura entre 24 °C y 27 °C por medio de un baño de hielo.

Después de 75 min a TA, la reacción se había completado. La mezcla de reacción se inactivó con NaOH 1 M (1 l). La mezcla de reacción se repartió entre salmuera (2,5 l) y TBDME (4 l, después 2 x 1 l). La fase orgánica se lavó con salmuera (500 ml) y se concentró al vacío. La mezcla en bruto se disolvió de nuevo en DCM (2 l). La fase acuosa se separó, la fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (252,99 g, 91 %).

#### Método 2:

Una solución de N-[[4-(dietoximetil)fenil]metil]tetrahidropiran-4-amina (252,99 g, 862,3 mmol) y Boc anhídrido (191,9 g, 202,0 ml, 879,5 mmol) en DCM (2,530 l) se enfrió a 3,3 °C. Se añadió Et<sub>3</sub>N (89,00 g, 122,6 ml, 879,5 mmol) durante 4 min, manteniendo la temperatura interna por debajo de 5 °C. El baño se retiró 45 min después del final de la adición. Y la mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con ácido cítrico 0,5 M (1 l), una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1 l) y salmuera (1 l). La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío para dar un aceite incoloro (372,38 g, 110 %). RMN 1H (400,0 MHz, DMSO); EM (EN+)

#### Método 3:

Se disolvió N-[[4-(dietoximetil)fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *terc*-butilo (372,38 g, 946,3 mmol) en THF (5 l) y agua (500 ml). Se añadió en una porción clorhidrato de hidroxilamina (72,34 g, 1,041 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA. La mezcla de reacción se repartió entre DCM (5 l) y agua. El extracto orgánico combinado se lavó con agua (1 l x 2). La fase orgánica se concentró al vacío hasta un volumen de aproximadamente 2 l. La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para dar un aceite incoloro y pegajoso que cristalizó después de un periodo de reposo al vacío. (334,42 g, 106 %). RMN 1H (400,0 MHz, CDCl<sub>3</sub>); EM (EN+)

#### Método 4:

Se disolvió N-[[4-[(E)-hidroxiiminometil]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *terc*-butilo (334,13 g, 999,2 mmol) en acetato de isopropilo (3,0 l) (la mezcla se calentó a 40 °C para permitir que todos los sólidos entraran en solución). Se añadió en porciones N-clorosuccinimida (140,1 g, 1,049 mol) durante 5 min y la mezcla de reacción se calentó a 55 °C (temperatura de bloque externo). Después de 45 min a 55 °C, la reacción había llegado a finalización. La mezcla de reacción se enfrió a TA. Los sólidos se retiraron por filtración y se enjuagaron con acetato de isopropilo (1 l). El extracto orgánico combinado se lavó secuencialmente con agua (1,5 l, 5 veces) y salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para dar un aceite viscoso de color amarillo (355,9 g; 96 %). RMN 1H (400,0 MHz, CDCl<sub>3</sub>); EM (EN+)

#### Método 5:

Se añadió Et<sub>3</sub>N (76,97 g, 106,0 ml, 760,6 mmol) durante 20 minutos a una solución de N-(5-bromo-3-etinil-pirazin-2-il)-N-*terc*-butoxicarbonil-carbamato de *terc*-butilo (233,0 g, 585,1 mmol) y N-[[4-[(Z)-C-cloro-N-hidroxi-carbonimidol]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *terc*-butilo (269,8 g, 731,4 mmol) en DCM (2,330 l) a TA. Durante la adición de trietilamina, la exoterma se estabilizó enfriando la mezcla en un baño de hielo, después la mezcla de reacción se calentó gradualmente hasta TA y la mezcla se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con agua (1,5 l, 3 veces) y salmuera. El extracto orgánico se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró parcialmente al vacío. Se añadió heptano (1,5 l) y la concentración se continuó produciendo 547,63 g de un sólido de color amarillo-naranja.

Se recogieron 542,12 g en ~2 vol (1 l) de acetato de etilo. La mezcla se calentó a 74-75 °C internamente y se agitó hasta que se disolvió todo el sólido. Se añadió lentamente heptano (3,2 l) mediante un embudo de adición a la solución caliente manteniendo la temperatura interna entre 71 °C y 72 °C. Al final de la adición, la solución de color pardo oscuro se pipeteó con un poco de producto recristalizado, y la mezcla de reacción se dejó enfriar a TA sin ninguna agitación para cristalizar durante una noche. El sólido se retiró por filtración y se enjuagó con heptano (2 x 250 ml), después se secó al vacío para producir 307,38 g del producto del título (72 %). RMN 1H (400,0 MHz, CDCl<sub>3</sub>); EM (EN+)

#### Método 6:

Se suspendieron N-[[4-[5-[3-[bis(*terc*-butoxicarbonil)amino]-6-bromo-pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *terc*-butilo (303 g, 414,7 mmol) y 2-metil-2-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]propanonitrilo (112,9 g, 414,7 mmol) en MeCN (2 l) y H<sub>2</sub>O (1 l). Se añadieron Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (414,7 ml de 2 M, 829,4 mmol), seguido de Pd[P(tBu)<sub>3</sub>]<sub>2</sub> (21,19 g, 41,47 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó con N<sub>2</sub> durante 1 h. La mezcla de reacción se puso en una atmósfera de nitrógeno y se calentó a 70 °C (temperatura del bloque) durante 4 h (temperatura interna fluctuando entre 60 °C y 61 °C). La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc (2 l) y agua (500 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera (500 ml), se filtró a través de un lecho corto de celite y se concentró a

presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 3 l. La solución se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró parcialmente al vacío. Se añadió iPrOH (1,5 l) y el disolvente se retiró al vacío para producir el producto deseado en forma de una espuma de color pardo claro (405 g).

- 5 Se recogieron 400 g en ~5 vol (2 l) de iPrOH y la mezcla se calentó a 80 °C hasta que se disolvió el sólido. La solución de color pardo oscuro se pipeteó y la mezcla de reacción se dejó enfriar lentamente a TA durante una noche. El sólido se retiró por filtración y se enjuagó con iPrOH (2 x 250 ml) y éter de petróleo (2 x 200 ml). El sólido resultante se suspendió en éter de petróleo (2,5 l), se retiró por filtración y se secó al vacío. El sólido resultante se disolvió en DCM (2,5 l) y se agitó lentamente durante 1 h con 30 g de SPM32 (sílice de sulfuro de 3-mercaptopropil etilo). El sílice se filtró a través de una capa de florisilo y se enjuagó con DCM. El procedimiento se repitió dos veces, después la solución de DCM se concentró al vacío para dar 238,02 g de un sólido de color amarillo claro.

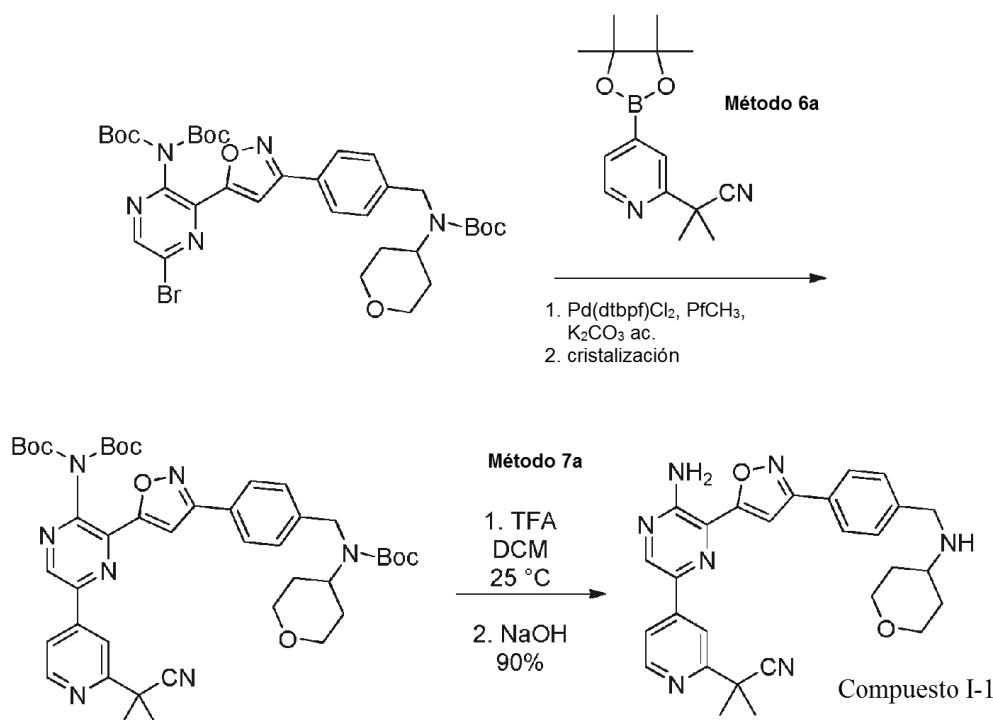
#### Método 7:

- 15 Se disolvió N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-[2-(1-ciano-1-metil-etil)-4-piridil]pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *tert*-butilo (238 g, 299,0 mmol) en DCM (2,380 l). Se añadió TFA (500 ml, 6,490 mol) a TA durante 3 min. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, después se destiló azeotrópicamente con heptano (2 x 300 ml). Después, el aceite se suspendió en EtOH abs. (2,5 l) y se filtró. El sólido se disolvió en una mezcla de etanol (1,190 l) y agua (1,190 l).  
20 Se añadió carbonato potásico (124,0 g, 897,0 mmol) en agua (357,0 ml) a la solución y la mezcla se agitó a TA durante una noche.

El sólido se retiró por filtración, se lavó con agua (2,5 l) y se secó a 50 °C al vacío para dar 108,82 g del compuesto del título (Compuesto I-1) en forma de un polvo de color amarillo. (73 %)

25

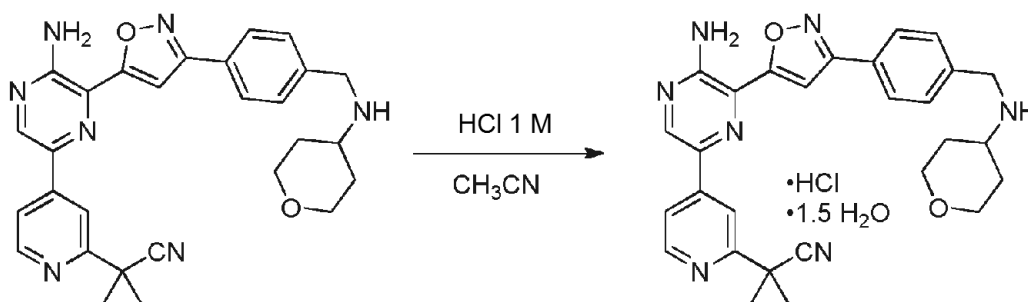
#### Métodos 6a y 7a



- 30 Una mezcla de N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-bromo-pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *tert*-butilo (110,0 g, 151 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (41,6 g, 301 mmol) y 2-metil-2-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil] propanonitrilo (41,0 g, 151 mmol) en tolueno (770 ml) y agua (220 ml) se agitó y se desgasificó con N<sub>2</sub> durante 30 min a 20 °C. Se añadió el catalizador Pd(dtbpf)Cl<sub>2</sub> (1,96 g, 3,01 mmol) y la mezcla se desgasificó durante 10 min más. La mezcla se calentó a 70 °C hasta que se completó la reacción. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (220 ml) y se filtró a través de un lecho de Celite. La fase orgánica se concentró para retirar la mayoría del disolvente. El concentrado se diluyó con *i*-PrOH (550 ml). La suspensión resultante se agitó durante al menos 1 h y después el sólido se recogió por filtración para proporcionar un polvo de color castaño. El sólido se disolvió en tolueno (990 ml) y se agitó con resina Biotage MP-TMT (18,6 g) durante 2 h a temperatura ambiente. La resina se retiró por filtración. El filtrado se concentró después se diluyó con *i*-

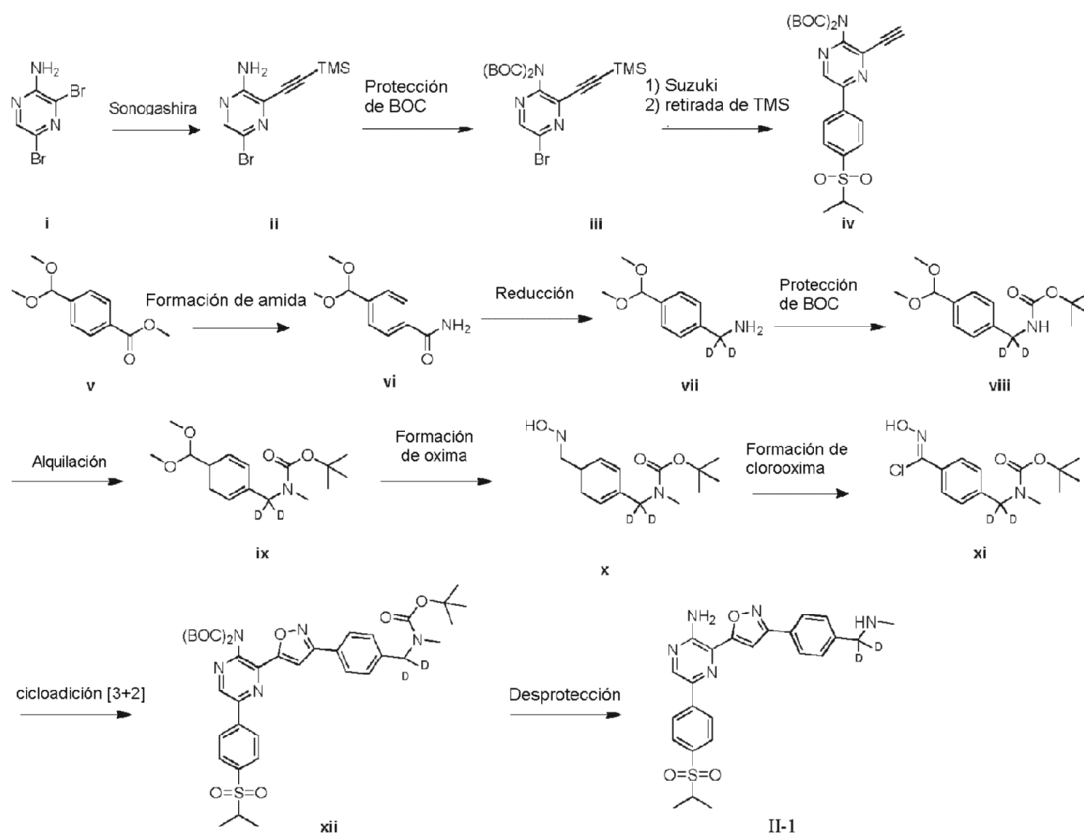
PrOH (550 ml) y después se concentró de nuevo. Se añadió *i*-PrOH (550 ml) y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se enfrió la suspensión a 5 °C y el sólido se recogió por filtración, después se secó para proporcionar N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-[2-(1-ciano-1-metil-etil)-4-piridil]pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *tert*-butilo (Compuesto I-1) (81,9 g; 68 %, rendimiento, pureza del 98,7 % área según HPLC) en forma de un polvo de color crema.

**Cambio de formar para el Compuesto I-1·HCl·1,5 H<sub>2</sub>O**

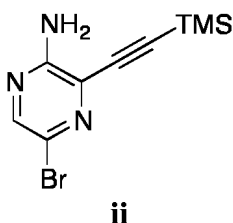


Una suspensión de N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-[2-(1-ciano-1-metil-etil)-4-piridil]pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-tetrahidropiran-4-il-carbamato de *tert*-butilo (Compuesto I-1) (36,0 g, 72,6 mmol) en CH<sub>3</sub>CN (720 ml) se agitó a temperatura ambiente (20 °C) en un matraz equipado con agitación mecánica. Se añadió una solución acuosa 1 M de HCl (72,6 ml; 72,6 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con CH<sub>3</sub>CN (3 x 50 ml), después se secó al vacío con alta humedad durante 2 h para proporcionar el Compuesto I-VHCM .5 H<sub>2</sub>O (30,6 g; rendimiento 74 %), pureza del 98,8 % área según HPLC) en forma de un polvo de color amarillo. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 9,63 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H), 9,05 (s, 1H), 8,69 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,16 - 8,03 (m, 3H), 7,84 (t, *J* = 4,1 Hz, 3H), 7,34 (s a, 2H), 4,40 - 4,18 (m, 2H), 3,94 (dd, *J* = 11,2, 3,9 Hz, 2H), 3,32 (t, *J* = 11,2 Hz, 3H), 2,17 - 2,00 (m, 2H), 1,81 (s, 6H), 1,75 (dd, *J* = 12,1,4,3 Hz, 2H).

**Ejemplo 2: Síntesis de 3-[3-[4-[dideuterio(metilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-amina (Compuesto II-1)**



**Etapa 1: 5-Bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina**

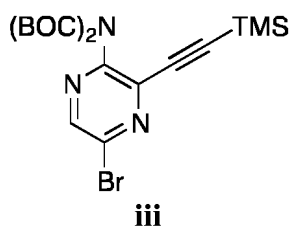


5

Se añadió gota a gota (trimetilsilil)acetileno (1,845 g, 2,655 ml, 18,78 mmol) a una solución de 3,5-dibromopirazin-2-amina (compuesto **i**) (5 g, 19,77 mmol) en DMF (25 ml). Después, se añadieron trietilamina (10,00 g, 13,77 ml, 98,85 mmol), yoduro de cobre (I) (451,7 mg, 2,372 mmol) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1,142 g, 0,9885 mmol) y la solución resultante se agitó a TA durante 30 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15 %/éter de petróleo para dar el producto en forma de un sólido de color amarillo (3,99 g, rendimiento del 75 %). RMN 1H (400,0 MHz, DMSO) δ 0,30 (9H, s), 8,06 (1H, s); EM (EN+) 271,82.

15

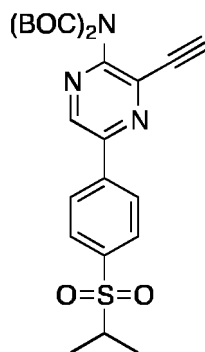
**Etapa 2: N-*terc*-Butoxicarbonil-N-[5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil) pirazin-2-il]carbamato de *terc*-butilo**



20 Se disolvió 5-bromo-3-((2-trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (2,85 g, 10,55 mmol) en DCM (89,06 ml) y se trató con Boc anhídrido (6,908 g, 7,272 ml, 31,65 mmol), seguido de DMAP (128,9 mg, 1,055 mmol). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Después, la mezcla se diluyó con DCM y NaHCO<sub>3</sub> y las capas se

separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con DCM, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna eluyendo con diclorometano para dar el producto deseado en forma de un aceite incoloro (4,95 g, rendimiento del 99 %). RMN  $^1\text{H}$  (400,0 MHz, DMSO)  $\delta$  0,27 (9H, s), 1,42 (18H, s), 8,50 (1H, s); EM (EN+) 472,09.

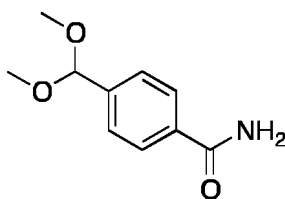
5 **Etapla 3: *terc*-Butil N-(3-etinil-5-(4-(isopropilsulfonil)fenil)pirazin-2-il)N-*terc*butoxicarbonil-carbamato de *terc*-butilo**



iv

10 Se disolvieron carbamato de *N*-[5-bromo-3-(2-trimetilsililetinil)pirazin-2-il]-*N*-*terc*butoxicarbonilo (3 g, 6,377 mmol) y ácido (4-isopropilsulfonilfenil)borónico (1,491 g, 6,536 mmol) en MeCN/agua (60/12 ml). Se añadió  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (2,706 g, 12,75 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó con un flujo de nitrógeno (5 ciclos). Se añadió  $\text{Pd}[\text{P}(\text{tBu})_3]_2$  (162,9 mg, 0,3188 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió rápidamente en una mezcla de acetato de etilo (500 ml), agua (90 ml) y metabisulfito sódico acuoso al 1 % a 4 °C, se agitó bien y la capa se separó. La fracción orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y el filtrado se trató con sulfuro de 3-mercaptopropil etilo sobre sílice (0,8 mmol/g, 1 g), se preabsorbió sobre gel de sílice, después se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 30-40 %/éter de petróleo. Los disolventes se concentraron al vacío para dejar el producto en forma de un aceite de color amarillo viscoso, que se trituró con éter de petróleo para producir el producto en forma de cristales de color beige (1,95 g, rendimiento del 61 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,20 (m, 6H), 1,39 (s, 18H), 3,50 (m, 1H), 5,01 (s, 1H), 8,03 (m, 2H), 8,46 (m, 2H) y 9,37 (s, 1H).

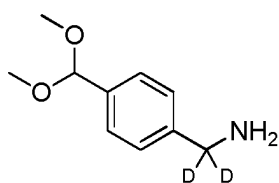
25 **Etapla 4: 4-(Dimetoximetil)benzamida**



vi

30 Una mezcla de 4-(dimetoximetil)benzoato de metilo (3,8 g, 18,08 mmol) y  $\text{NH}_3$  7 M en MeOH (30 ml de 7 M, 210,0 mmol) en un tubo cerrado herméticamente se calentó a 110 °C durante 22 horas. Se añadió una porción adicional de  $\text{NH}_3$  7 M en MeOH (20 ml de 7 M, 140,0 mmol) y la reacción se calentó a 135 °C durante 23 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se sometió de nuevo a las condiciones de reacción ( $\text{NH}_3$  7 M en MeOH (30 ml de 7 M, 210,0 mmol) a 115 °C) durante 16 horas más. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró en  $\text{Et}_2\text{O}$ . El precipitado resultante se aisló por filtración para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (590 mg, rendimiento del 17 %). El filtrado se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 40 g, eluyendo con 0 a 100 % de EtOAc/éter de petróleo a 10 % de MeOH/EtOAc, cargado en EtOAc/MeOH) para dar una porción adicional del producto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (225 mg, rendimiento del 6 %). Total aislado (815 mg, rendimiento del 23 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  3,26 (s, 6H), 5,44 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,46 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,84 - 7,91 (m, 2H) y 7,98 (s, 1H) ppm; EM (EN+) 196,0.

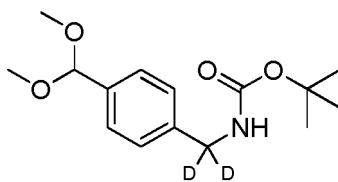
40 **Etapla 5: Dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metanamina**



vii

Se añadió gota a gota  $\text{LiDH}_4$  (12,52 ml de 1 M, 12,52 mmol) a una solución agitada de 4-(dimetoximetil)benzamida (815 mg, 4,175 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se calentó a reflujo durante 16 horas, después se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió mediante la adición secuencial de  $\text{D}_2\text{O}$  (1 ml), NaOH al 15 % en  $\text{D}_2\text{O}$  (1 ml) y  $\text{D}_2\text{O}$  (4 ml). El sólido resultante se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se secó mediante destilación azeotrópica con tolueno (x 3) para dar el compuesto del subtítulo en forma de un aceite de color amarillo (819 mg), que se usó sin purificación adicional; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  3,23 (s, 6H), 5,36 (s, 1H) y 7,30 - 7,35 (m, 4H) ppm; EM (EN+) 167,0.

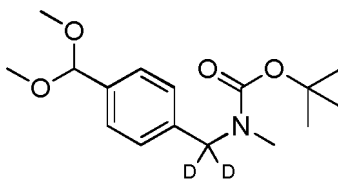
**Etapa 6: N-[Dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]carbamato de *terc*-butilo**



viii

Se añadió  $\text{Et}_3\text{N}$  (633,7 mg, 872,9  $\mu\text{l}$ , 6,262 mmol) a una suspensión agitada de dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metanamina (765 mg, 4,175 mmol) en THF (15 ml) a 0 °C. La reacción se dejó en agitación a esta temperatura durante 30 minutos, después se añadió en porciones  $\text{Boc}_2\text{O}$  (956,8 mg, 1,007 ml, 4,384 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 120 g, eluyendo con 0 a 50 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (1,04 g, rendimiento del 88 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,40 (s, 9H), 3,23 (s, 6H), 5,36 (s, 1H), 7,24 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 2H), 7,33 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 2H) y 7,38 (s, 1H) ppm.

**Etapa 7: N-[Dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]-N-metil-carbamato de *terc*-butilo**

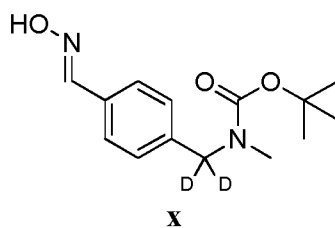


ix

Se añadió gota a gota LiHMDS (1 M en THF) (1,377 ml de 1 M, 1,377 mmol) a una solución agitada de N-[dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]carbamato de *terc*-butilo (300 mg, 1,059 mmol) en THF (5 ml) a -78 °C. La solución se agitó a esta temperatura durante 10 minutos, después se añadió gota a gota yodometano (225,4 mg, 98,86  $\mu\text{l}$ , 1,588 mmol) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se enfrió de nuevo a -78 °C y se añadió LiHMDS (1 M en THF) (635,4  $\mu\text{l}$  de 1 M, 0,6354 mmol). Después de 10 minutos, se añadió yodometano (105,2 mg, 46,14  $\mu\text{l}$ , 0,7413 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (x 2) y salmuera (x 1), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 24 g, eluyendo con 0 a 30 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (200 mg, rendimiento del 63 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,41 (d,  $J$  = 27,7 Hz, 9H), 2,76 (s, 3H), 3,24 (s, 6H), 5,37 (s, 1H), 7,23 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 2H) y 7,37 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 2H) ppm.

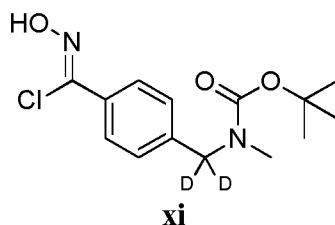
**Etapa 8: N-[Dideuterio-[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-N-(metil)carbamato de *terc*-butilo**





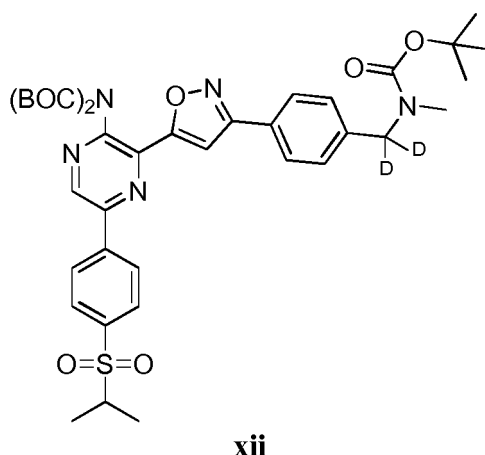
Se añadió clorhidrato de hidroxilamina (51,15 mg, 0,7361 mmol) a una solución agitada de *N*-[dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo (199 mg, 0,6692 mmol) en THF (10 ml)/agua (1,000 ml) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se repartió entre DCM y salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (x 2) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (180 mg, rendimiento del 100 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,41 (d, J = 24,6 Hz, 9H), 2,76 (s, 3H), 7,25 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,13 (s, 1H) y 11,20 (s, 1H) ppm; EM (EN+) 211,0 (M-Boc).

**Etapa 9: N-[[4-[Cloro-*N*-hidroxi-carbonimidooil]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo**



Se trató *N*-[dideuterio-[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-(metil)carbamato de *tert*-butilo (178 mg, 0,6683 mmol) en DMF (2 ml) con NCS (89,24 mg, 0,6683 mmol) y la reacción se calentó a 65 °C durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua. La mezcla se extrajo con EtOAc (x 2) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 4), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (188 mg, rendimiento del 94 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,42 (d, J = 24,7 Hz, 9H), 2,78 (s, 3H), 7,32 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,78 (d, J = 8,2 Hz, 2H) y 12,36 (s, 1H) ppm.

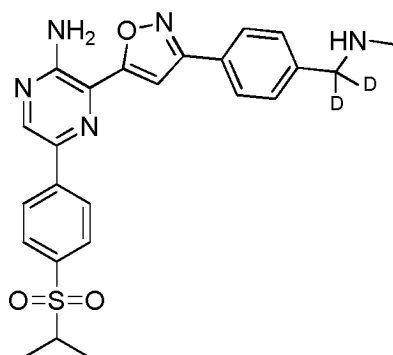
**Etapa 10: N-[[4-[5-[3-[Bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo**



Se añadió gota a gota Et<sub>3</sub>N (36,31 mg, 50,01 μl, 0,3588 mmol) a una solución agitada de *N*-*tert*-butoxicarbonil-*N*-[3-etinil-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]carbamato de *tert*-butilo (150 mg, 0,2990 mmol) y *N*-[[4-[cloro-*N*-hidroxi-carbonimidooil]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo (89,93 mg, 0,2990 mmol) en THF anhidro (3 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc/salmuera. Se añadió agua hasta que la capa acuosa se volvió transparente y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (x 1) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 40 g, eluyendo con 0 a 30 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (134 mg, rendimiento del 59 %); RMN

1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,22 (d,  $J = 6,8$  Hz, 6H) 1,32 (s, 18H), 1,43 (d,  $J = 23,1$  Hz, 9H), 2,82 (s, 3H), 3,56 (pent, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,3$  Hz, 3H), 8,02 - 8,03 (m, 3H), 8,06 - 8,11 (m, 2H), 8,62 - 8,67 (m, 2H) y 9,51 (s, 1H) ppm; EM (EN+) 666,2 (M-Boc).

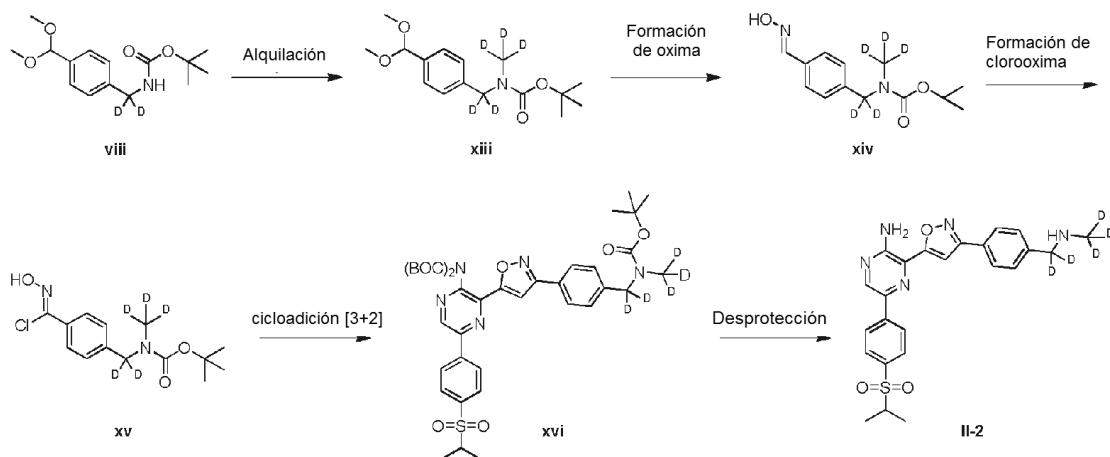
5 **Eta** **11**: **3-[3-[4-[Dideuterio(metilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-amina (compuesto II-1)**



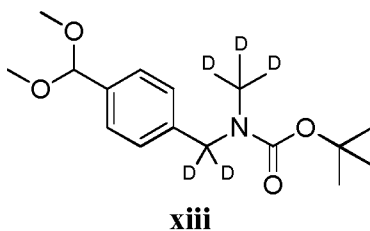
**II-1**

- 10 Se añadió HCl 3 M en MeOH (1,167 ml de 3 M, 3,500 mmol) a una solución agitada de *N*-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-metilcarbamato de *tert*-butilo (134 mg, 0,1750 mmol) en DCM (5 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló por filtración y se secó al vacío a 40 °C para dar la di-sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (58,8 mg, rendimiento del 62 %); RMN
- 15 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,20 (d,  $J = 6,8$  Hz, 6H), 2,60 (t,  $J = 5,4$  Hz, 3H), 3,48 (sept.,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 7,22 (s a, 2H), 7,69 - 7,75 (m, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,92 - 7,99 (m, 2H), 8,08 - 8,15 (m, 2H), 8,37 - 8,42 (m, 2H), 8,97 (s, 1H) y 9,10 (d,  $J = 5,8$  Hz, 2H) ppm; EM (EN+) 466,2.

20 **Ejemplo 3: Síntesis de 3-[3-[4-[dideuterio-(trideuteriometilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-amina (Compuesto II-2)**



25 **Eta** **1**: ***N*-[Dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]-I-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo**

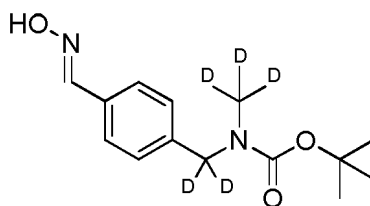


**xiii**

Se añadió gota a gota LiHMDS (1 M en THF) (1,181 ml de 1 M, 1,181 mmol) a una solución agitada de *N*-[dideuterio-

[4-(dimetoximetil)fenil]metil]carbamato de *terc*-butilo (300 mg, 1,059 mmol) en THF (5 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . La solución se agitó a esta temperatura durante 30 minutos, después se añadió gota a gota trideuterio(yodo)metano (198,0 mg, 84,98  $\mu\text{l}$ , 1,366 mmol) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 21 horas. La reacción se enfrió de nuevo a  $-78^{\circ}\text{C}$  y se añadió una porción adicional de LiHMDS (1 M en THF) (635,4  $\mu\text{l}$  de 1 M, 0,6354 mmol).  
 5 Después de 15 minutos, se añadió más trideuterio(yodo)metano (76,75 mg, 32,94  $\mu\text{l}$ , 0,5295 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (x 2) y salmuera (x 1), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 24 g, eluyendo con 0 a 30 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (213 mg, rendimiento del 67 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,36 - 1,42 (m, 9H), 3,22 (s, 6H), 5,35 (s, 1H), 7,21 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H) y 7,35 (d,  $J = 7,7$  Hz, 2H) ppm.

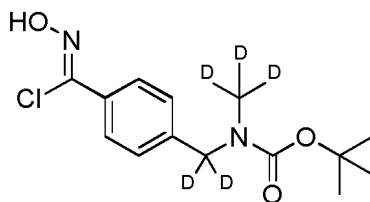
**Etapla 2: *N*-[Dideuterio-[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**



xiv

se añadió clorhidrato de hidroxilamina (53,95 mg, 0,7763 mmol) a una solución agitada de *N*-[dideuterio-[4-(dimetoximetil)fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo (212 mg, 0,7057 mmol) en THF (10 ml)/agua (1,000 ml) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 22 horas. La reacción se repartió entre DCM y salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (x 2) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (190 mg, rendimiento del 100 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,41 (d,  $J = 24,2$  Hz, 9H), 7,25 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,58 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 8,13 (s, 1H) y 11,20 (s, 1H) ppm.

**Etapla 3: *N*-[[4-[Cloro-*N*-hidroxi-carbonimidoil]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**

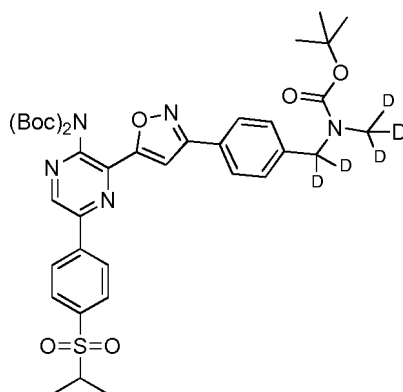


xv

Se trató *N*-[dideuterio-[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo (190,0 mg, 0,7054 mmol) en DMF (2 ml) con NCS (94,19 mg, 0,7054 mmol) y la reacción se calentó a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua. La mezcla se extrajo con EtOAc (x 2) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 4), se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (198 mg, rendimiento del 93 %); RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,41 (d,  $J = 26,0$  Hz, 9H), 7,32 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 7,78 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H) y 12,36 (s, 1H) ppm.

**Etapla 4: *N*-[[4-[5-[3-[Bis(*terc*-butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**

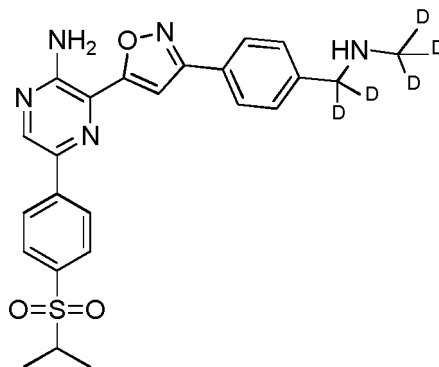
40



xvi

Se añadió gota a gota Et<sub>3</sub>N (36,31 mg, 50,01 µl, 0,3588 mmol) a una solución agitada de *N*-*tert*-butoxicarbonil-*N*-[3-etinil-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]carbamato de *tert*-butilo (150 mg, 0,2990 mmol) y *N*-[[4-[cloro-*N*-hidroxi-carbonimidol]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo (90,84 mg, 0,2990 mmol) en THF anhidro (3 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc/salmuera. Se añadió agua hasta que la capa acuosa se volvió transparente y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (x 1) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 40 g, eluyendo con 0 a 35 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (158 mg, rendimiento del 69 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 1,44 (d, *J* = 22,0 Hz, 9H), 3,56 (dt, *J* = 13,5, 6,7 Hz, 2H), 7,43 (d, *J* = 8,2 Hz, 3H), 8,02 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 8,08 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 8,65 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H) y 9,51 (s, 1H) ppm; EM (EN+) 669,3 (M-Boc).

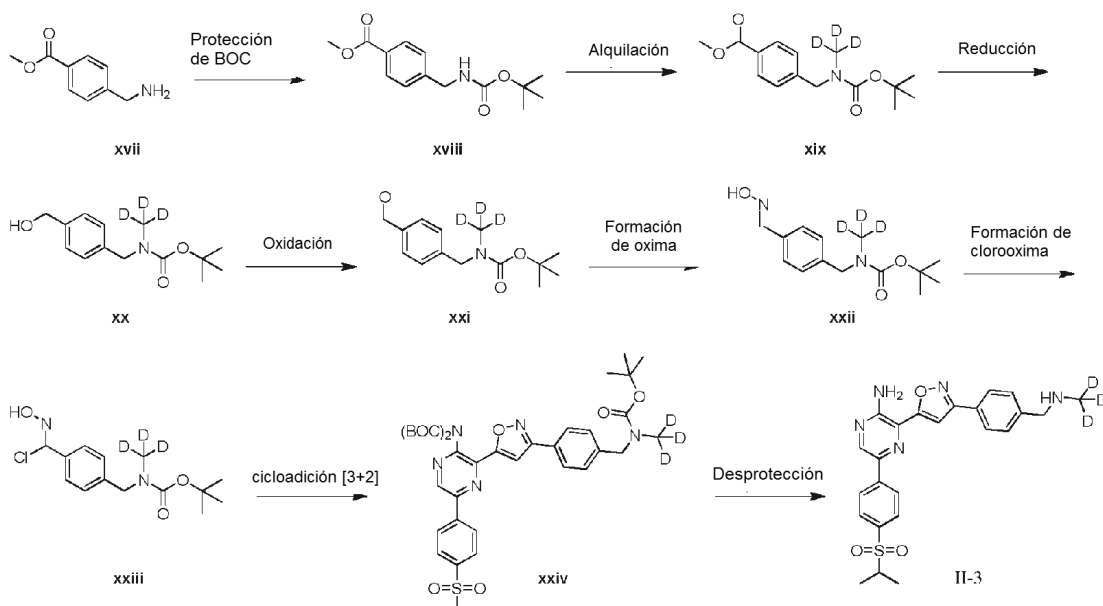
**Etapas 5:** 3-[3-[4-[dideuterio-(trideuteriometilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-amina (compuesto II-2)



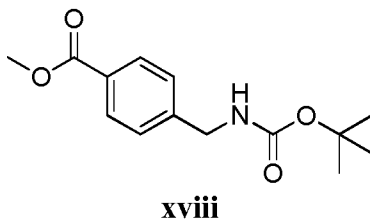
II-2

Se añadió HCl 3 M en MeOH (1,361 ml de 3 M, 4,084 mmol) a una solución agitada de *N*-[[4-[5-[3-[bis(*tert*butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]-dideuterio-metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo (157 mg, 0,2042 mmol) en DCM (5 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló por filtración y se secó al vacío a 40 °C para dar la di-sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (72,5 mg, rendimiento del 66 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,20 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 3,48 (dc, *J* = 13,6, 6,7 Hz, 1H), 7,21 (s, 2H), 7,68 - 7,78 (m, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,91 - 7,99 (m, 2H), 8,08 - 8,13 (m, 2H), 8,36 - 8,42 (m, 2H), 8,96 (s, 1H) y 9,14 (s, 2H) ppm; EM (EN+) 469,1.

**Ejemplo 4:** Síntesis de 5-(4-isopropilsulfonilfenil)-3-[3-[4-[(trideuteriometilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]pirazin-2-amina (Compuesto II-3)



**Etapa 1: 4-[(*tert*-Butoxycarbonilamino)metil]benzoato de metilo**



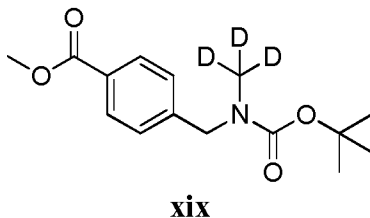
5

Se añadió Et<sub>3</sub>N (1,882 g, 2,592 ml, 18,60 mmol) a una suspensión agitada de 4-(aminometil)benzoato de metilo (Ácido clorhídrico (1)) (1,5 g, 7,439 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C. La reacción se dejó en agitación a esta temperatura durante 30 minutos, después se añadió en porciones Boc<sub>2</sub>O (1,705 g, 1,795 ml, 7,811 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con HCl acuoso 1 M (x 2), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (x 2) y salmuera (x 1). La capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional (1,93 g, rendimiento del 98 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,40 (s, 9H), 3,85 (s, 3H), 4,20 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H), 7,38 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,49 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H) y 7,92 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H) ppm; EM (EN+) 251,1 (M-Me).

10

15

**Etapa 2: 4-[(*tert*-Butoxycarbonil(*trideuterio*)metil]amino]metil]benzoato de metilo**



20

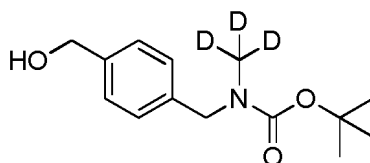
Se añadió gota a gota LiHMDS (1 M en THF) (8,112 ml de 1 M, 8,112 mmol) a una solución agitada de 4-[(*tert*-butoxycarbonilamino)metil]benzoato de metilo (1,93 g, 7,275 mmol) en THF (10 ml) a -78 °C. La solución se agitó a esta temperatura durante 30 minutos, después se añadió gota a gota *trideuterio*(yodo)metano (1,360 g, 9,385 mmol) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se enfrió a -78 °C y se añadió una porción adicional de LiHMDS (1 M en THF) (2,182 ml de 1 M, 2,182 mmol). Después de 10 minutos, se añadió una porción adicional de *trideuterio*(yodo)metano (527,4 mg, 3,638 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (x 2) y salmuera (x 1), se secó (MgSO<sub>4</sub>) se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 120 g, eluyendo con 0 a 30 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un aceite de color amarillo pálido (1,37 g, rendimiento del 67 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,38 (d, *J* = 44,2 Hz, 9H), 3,83 (s, 3H), 4,43 (s, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H) y 7,94 (d, *J* =

25

30

8,1 Hz, 2H) ppm; EM (EN+) 268,1 (M-Me)

**Etapas 3: *N*-[[4-(Hidroximetil)fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**

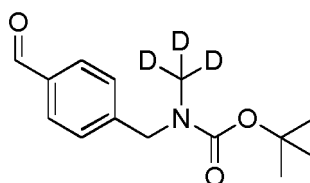


5

XX

Se añadió  $\text{LiBH}_4$  (158,5 mg, 7,278 mmol) a una solución agitada de 4-[[*terc*-butoxicarbonil(trideuteriometil)amino]metil]benzoato de metilo (1,37 g, 4,852 mmol) en THF (10 ml) y la reacción se calentó a 85 °C durante 15 horas. Se añadió una porción adicional de  $\text{LiBH}_4$  (158,5 mg, 7,278 mmol) y la reacción se agitó a 65 °C durante 7 horas más. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se vertió sobre hielo picado y mientras se agitaba, se añadió gota a gota HCl 1 M hasta que no se observó más efervescencia. La mezcla se agitó durante 10 minutos, después se añadió  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado hasta que la mezcla estuvo a pH 8. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (x 3) y los extractos orgánicos combinados se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 120 g, eluyendo con 0 a 100 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (1,03 g, rendimiento del 84 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,42 (d,  $J = 14,6$  Hz, 9H), 4,35 (s, 2H), 4,48 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 5,15 (t,  $J = 5,7$  Hz, 1H), 7,18 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H) y 7,30 (d,  $J = 7,7$  Hz, 2H) ppm; EM (EN+) 181,1 (M-O<sup>t</sup>Bu).

20 **Etapas 4: *N*-[[4-Formilfenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**

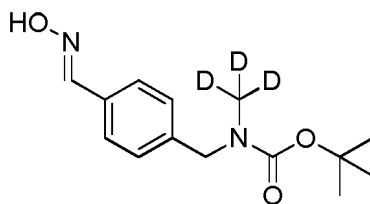


xxi

Se añadió  $\text{MnO}_2$  (5,281 g, 1,051 ml, 60,75 mmol) a una solución agitada de *N*-[[4-(hidroximetil)fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo (1,03 g, 4,050 mmol) en DCM (10 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La reacción se filtró a través de una capa de Celite y se lavó con DCM. El filtrado se concentró al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (891 mg, rendimiento 88 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,40 (d,  $J = 43,4$  Hz, 9H), 4,48 (s, 2H), 7,43 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,91 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H) y 10,00 (s, 1H), ppm.

30

**Etapas 5: *N*-[[4-[Hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**



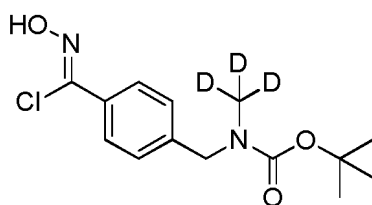
xxii

Se añadió hidroxilamina (466,0  $\mu\text{l}$  de 50 %p/v, 7,054 mmol) a una solución agitada de *N*-[[4-formilfenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo (890 mg, 3,527 mmol) en etanol (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se recogió en agua y se extrajo con EtOAc (x 3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se trituró en éter de petróleo y el precipitado se aisló por filtración para dar el producto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (837 mg, rendimiento del 89 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,41 (d,  $J = 25,8$  Hz, 9H), 4,38 (s, 2H), 7,24 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,58 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 8,13 (s, 1H) y 11,20 (s, 1H) ppm; EM (EN+) 212,0 (M-<sup>t</sup>Bu).

40

**Etapas 6: *N*-[[4-[Cloro-*N*-hidroxi-carbonimidooil]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *terc*-butilo**

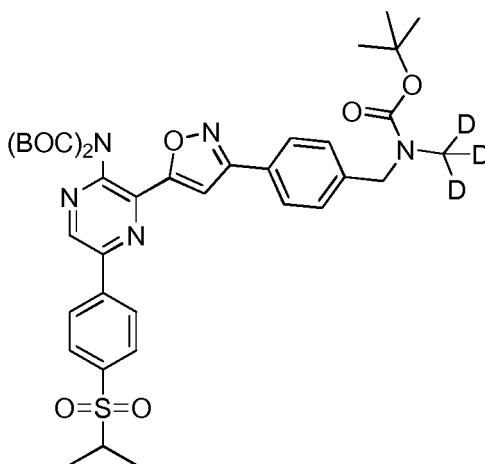
45



xxiii

Se trató *N*-[[4-[(hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo (250 mg, 0,9351 mmol) en DMF (2,5 ml) con NCS (124,9 mg, 0,9351 mmol) y la reacción se calentó a 65 °C durante 1 hora. La reacción se  
 5 enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua. La mezcla se extrajo con EtOAc (x 2) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 4), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (259 mg, rendimiento del 92 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,41 (d, *J* = 29,6 Hz, 9H), 4,42 (s, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H) y 12,38 (s, 1H), ppm.

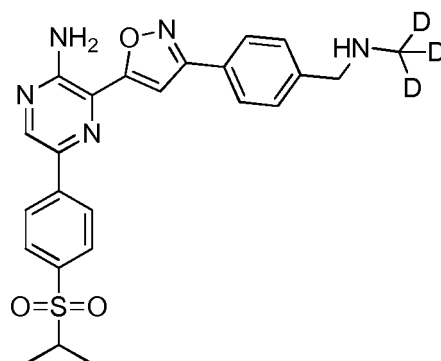
**Etapa 7: *N*-[[4-[5-[3-[Bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo**



xxiv

Se añadió gota a gota Et<sub>3</sub>N (48,41 mg, 66,68 µl, 0,4784 mmol) a una solución agitada de *N-tert*-butoxicarbonil-*N*-[3-etinil-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]carbamato de *tert*-butilo (200 mg, 0,3987 mmol) y *N*-[[4-[cloro-*N*-hidroxi-carbonimidol]fenil]metil]-*N*-(trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo (120,3 mg, 0,3987 mmol) en THF anhidro (5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura  
 20 ambiente y se diluyó con EtOAc/salmuera. Se añadió agua hasta que la capa acuosa se volvió transparente y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (x 1) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (x 1), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 40 g, eluyendo con 0 a 20 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el producto del subtítulo en forma de un sólido de color blanco (213,5 mg, rendimiento del  
 25 70 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 1,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 1,31 (s, 18H), 1,43 (d, *J* = 26,2 Hz, 9H), 3,51 - 3,60 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 7,42 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 8,03 (d, *J* = 5,2 Hz, 3H), 8,08 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 8,65 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H) y 9,52 (s, 1H) ppm; EM (EN<sup>+</sup>) 667,4 (M-Boc).

**Etapa 8: 5-(4-Isopropilsulfonilfenil)-3-[3-[4-[(trideuteriometilamino)metil]fenil]isoxazol-5-il]pirazin-2-amina (Compuesto II-3)**

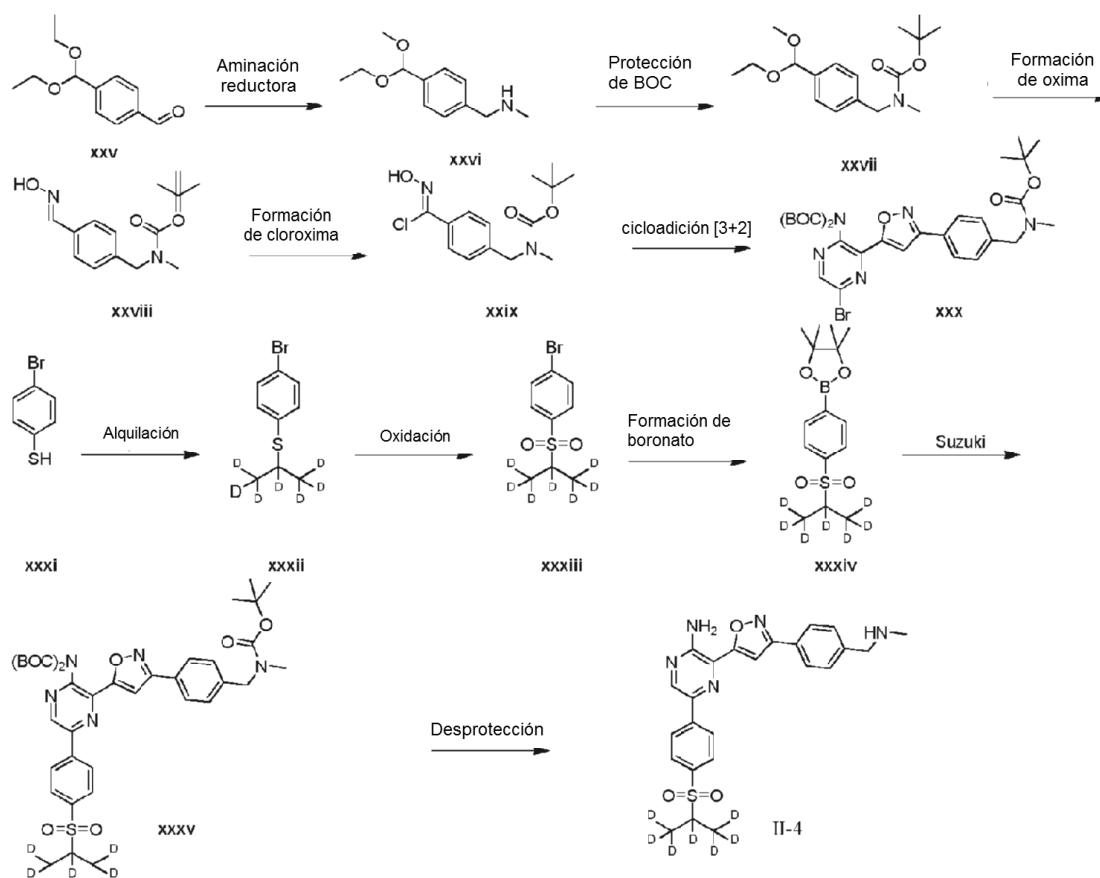


II-3

Se añadió HCl 3 M en MeOH (1,5 ml de 3 M, 4,500 mmol) a una solución agitada de *N*-[[4-[5-[3-bis(*tert*butoxicarbonil)amino]-6-(4-isopropilsulfonylfenil)pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-*N*-  
 5 (trideuteriometil)carbamato de *tert*-butilo (213 mg, 0,2777 mmol) en DCM (6 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante 15 horas. Se añadió una porción adicional de HCl 3 M en MeOH (0,5 ml de 3 M, 1,500 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 7 horas más. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló por filtración y se secó al vacío a 40 °C para dar la di-sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (97,6 mg, rendimiento del 65 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,20 (d,  $J$  = 6,8 Hz, 6H), 3,47 (tt,  $J$  = 14,0, 6,9 Hz, 1H), 4,19 - 4,25 (m, 2H), 7,23 (s, 2H), 7,72 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,95 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H), 8,11 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H), 8,39 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H), 8,97 (s, 1H) y 9,11 (s, 2H) ppm; EM (EN<sup>+</sup>) 467,2.

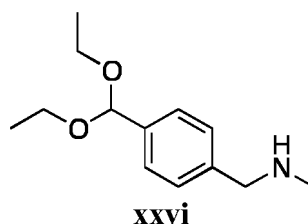
**Ejemplo 5: Síntesis de 3-[3-[4-(Metilaminometil)fenil]isoxazol-5-il]-5-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonylfenil]pirazin-2-amina (Compuesto II-4)**

15



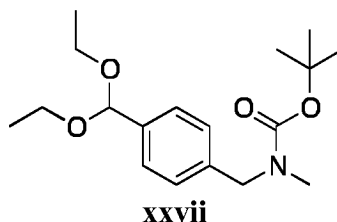
**Etapla 1: 1-[4-(Dietoximetil)fenil]-*N*-metil-metanamina**





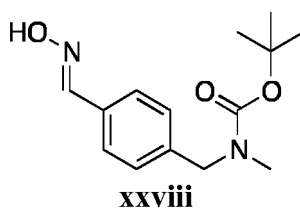
Se diluyó metilamina 2 M en MeOH (288,1 ml, 576,2 mmol) con metanol (1,000 l) y se agitó a ~20 °C. Se añadió gota a gota 4-(dietoximetil)benzaldehído (100 g, 480,2 mmol) durante 1 minuto y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,25 horas. Se añadió en porciones borohidruro sódico (29,07 g, 30,76 ml, 768,3 mmol) durante 20 minutos mientras se mantenía la temperatura entre 20 y 30 °C con un baño de hielo-agua. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después se inactivó mediante la adición gota a gota de NaOH (960,4 ml de 1,0 M, 960,4 mmol) durante 20 minutos. La reacción se agitó durante 30 minutos y se concentró al vacío para retirar MeOH. La reacción se repartió con MTBE (1,200 l) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (300,0 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (102,9 g, rendimiento del 96 %); RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,25 (t, 6H), 2,46 (s, 3H), 3,45 - 3,65 (m, 4H), 3,75 (s, 2H), 5,51 (s, 1H), 7,32 (d, 2H) y 7,44 (d, 2H) ppm.

**Etapas 2: N-[[4-(dietoximetil)fenil]metil]-N-metil-carbamato de *terc*-butilo**



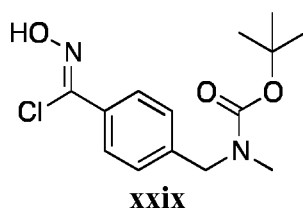
Un reactor recubierto con vidrio de 1 l se equipó con un agitador en su parte superior, un termopar y un enfriador. Una solución de 1-[4-(dietoximetil)fenil]-N-metil-metanamina (80,0 g, 358,2 mmol) en DCM (480,0 ml) se agitó a 18 °C. Se añadió una solución de Boc anhídrido (79,75 g, 83,95 ml, 365,4 mmol) en DCM (160,0 ml) durante 10 minutos y la solución se agitó a 20 - 25 °C durante una noche. La mezcla de reacción se filtró, se enjuagó con DCM (3 x 50 ml) y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un líquido de color amarillo pálido (116,6 g, rendimiento cuantitativo); RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,25 (t, 6H), 1,49 - 1,54 (2 x s, 9H), 2,78 - 2,83 (2 x s, 3H), 3,50 - 3,66 (m, 4H), 4,42 (s, 2H), 5,49 (s, 1H), 7,22 (d, 2H) y 7,45 (d, 2H) ppm.

**Etapas 3: N-[[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-N-metil-carbamato de *terc*-butilo**



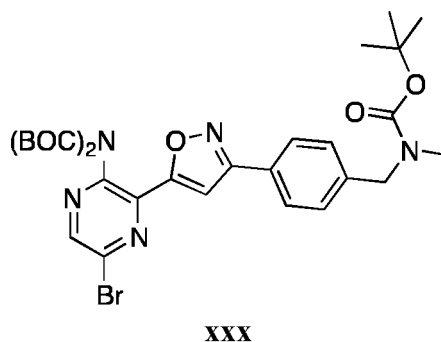
Una solución bifásica de N-[[4-(dietoximetil)fenil]metil]-N-metil-carbamato de *terc*-butilo (50,0 g, 154,6 mmol) en 2-MeTHF (400,0 ml) y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (100,0 ml de 10 %p/v, 70,40 mmol) se agitó a 8 - 10 °C en un reactor recubierto de vidrio de 1 l. Se añadió clorhidrato de hidroxilamina (46,38 ml de 5,0 M, 231,9 mmol) y la solución bifásica se agitó a 30 °C durante 16 horas. La reacción se diluyó con MTBE (200,0 ml) y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (200,0 ml), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se diluyó con heptano (200,0 ml) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El sólido se recogió por filtración para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (36,5 g, rendimiento del 89 %); RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,50 (s, 9H), 2,88 (s a, 3H), 4,60 (s, 2H), 7,26 (d, 2H), 7,52 (d, 2H) y 8,15 (s, 1H) ppm.

**Etapas 4: N-[[4-[cloro-N-hidroxi-carbonimidóil]fenil]metil]-N-metil-carbamato de *terc*-butilo**



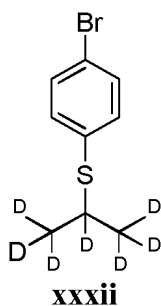
Una suspensión de *N*-[[4-[hidroxiiminometil]fenil]metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo (100 g, 378,3 mmol) en acetato de isopropilo (1,000 l) se agitó a temperatura ambiente. Se añadió *N*-clorosuccinimida (53,04 g, 397,2 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se repartió con agua (500,0 ml) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (500,0 ml) (2 x), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío para retirar la mayoría del disolvente. Se añadió heptano (1,000 l) y la mezcla se concentró al vacío para retirar la mayoría del disolvente. Se añadió heptano (1,000 l) y el precipitado resultante se aisló por filtración. La torta de filtro se lavó con heptano (500 ml) y se secó al aire para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanquecino (105,45 g, rendimiento del 93 %); RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,48 (2 x s, 9H), 2,90 (2 x s, 3H), 4,47 (s, 2H), 7,26 (d, 2H), 7,77 (d, 2H) y 8,82 (s, 1H) ppm.

**Etapas 5:** *N*-[[4-[5-[3-[Bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-bromo-pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo



Una suspensión de *N*-[[4-[cloro-*N*-hidroxi-carbonimidol]fenil]metil]-*N*-metil-carbamato de *tert*-butilo (100,0 g, 334,7 mmol) y *N-tert*-butoxicarbonil-*N*-[3-etinil-5-(4-isopropilsulfonilfenil)pirazin-2-il]carbamato de *tert*-butilo (121,2 g, 304,3 mmol) en DCM (1,212 l) se agitó a temperatura ambiente. Se añadió en una porción trietilamina (33,87 g, 46,65 ml, 334,7 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se repartió con agua (606,0 ml) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (606,0 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío casi a sequedad. Se añadió heptano (363,6 ml) y la mezcla se concentró a aproximadamente 300 ml. Se añadió más cantidad de heptano (1,212 l) y la mezcla se calentó a 90 °C con agitación. La mezcla se enfrió lentamente a temperatura ambiente y se agitó a esta temperatura durante 1 hora. El precipitado resultante se aisló por filtración y la torta de filtro se lavó con heptano (2 x 363,6 ml) y se secó al aire para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color beige (181,8 g, rendimiento del 90 %); RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,41 (s, 18H), 1,51 (s, 9H), 2,88 (2 x s, 3H), 4,50 (s, 2H), 7,36 - 7,38 (m, 3H), 7,86 (d, 2H) y 8,65 (s, 1H) ppm.

**Etapas 6:** 1-Bromo-4-[1,2,2,2-tetra-deuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfanil-benceno

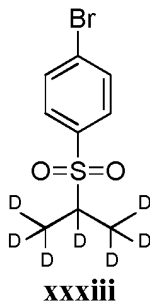


Se añadió en porciones hidruro sódico (246,5 mg, 6,163 mmol) a una solución agitada de 4-bromobenzenotiol (compuesto xxxi) (970,9 mg, 5,135 mmol) en DMF (10 ml) a 0 °C. Después de agitar a esta temperatura durante 15 minutos, se añadió 1,1,1,2,3,3,3-heptadeuterio-2-yodopropano (1 g, 5,649 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua y la mezcla se agitó durante 10 minutos. La mezcla se extrajo con éter dietílico (x 3) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (x 2) y salmuera (x 2), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del

subtítulo, que se usó directamente sin purificación adicional asumiendo un rendimiento y pureza del 100 %; RMN 1H (500 MHz, DMSO)  $\delta$  7,25 - 7,37 (m, 2H) y 7,48 - 7,55 (m, 2H) ppm.

**Etapa 7: 1-Bromo-4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonil-benceno**

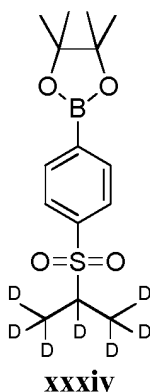
5



Se añadió en porciones mCPBA (2,875 g, 12,83 mmol) a una solución agitada de 1-bromo-4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonil-benceno (1,223 g, 5,134 mmol) en DCM (20 ml) a 0 °C y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla se lavó con NaOH acuoso 1 M (x 2), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> acuoso saturado (x 3) y salmuera (x 1), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (ISCO Companion, columna de 80 g, eluyendo con 0 a 40 % de EtOAc/éter de petróleo, cargado en DCM) para dar el compuesto del subtítulo en forma de un aceite incoloro (1,19 g, rendimiento del 86 %); RMN 1H (500 MHz, DMSO)  $\delta$  7,77 - 7,81 (m, 2H) y 7,88 - 7,92 (m, 2H) ppm.

15

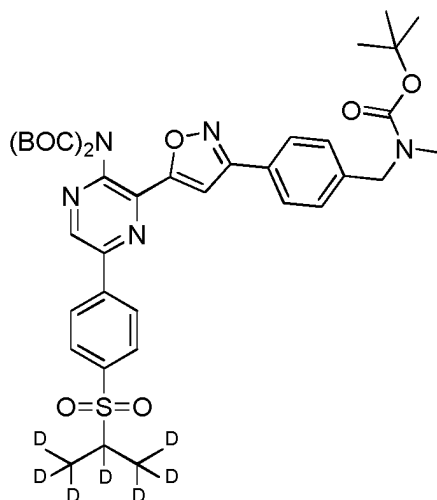
**Etapa 8: 4,4,5,5-Tetrametil-2-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil] sulfonilfenil]-1,3,2-dioxaborolano**



Se añadió Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.DCM (179,8 mg, 0,2202 mmol) a una suspensión agitada de 1-bromo-4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonil-benceno (1,19 g, 4,404 mmol), bis(dipinacolato)diboro (1,342 g, 5,285 mmol) y KOAc (1,296 g, 13,21 mmol) en dioxano (10 ml). La reacción se puso en una atmósfera de nitrógeno mediante 5 x ciclos de nitrógeno/vacío y la mezcla se calentó a 80 °C durante 4,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se repartió entre Et<sub>2</sub>O y agua, y las capas se separaron. La capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc al 30 %/éter de petróleo (35 ml) y se añadieron 1,2 g de Florosil. La mezcla se agitó durante 30 minutos, después se filtró, lavando los sólidos con alícuotas adicionales de EtOAc al 30 % /petróleo (x 3). El filtrado se concentró al vacío y se trituró en EtOAc al 10 %/éter de petróleo. El sólido resultante se aisló por filtración, se lavó con éter de petróleo y se secó al vacío para dar el compuesto del subtítulo en forma de un sólido de color blanquecino (1052,1 mg, rendimiento del 75 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  1,33 (s, 12H), 7,87 (d, J = 8,4 Hz, 2H) y 7,94 (d, J = 8,4 Hz, 2H) ppm.

30

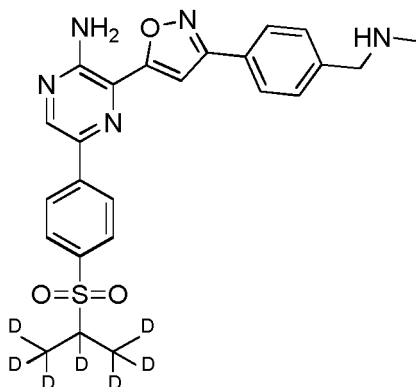
**Etapa 9: N-[4-[5-[3-[Bis(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonilfenil]pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-metil-carbamato de terc-butilo**



XXXV

5 Se añadió [1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (106,8 mg, 0,1639 mmol) a una mezcla de 4,4,5,5-tetrametil-2-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonilfenil]-1,3,2-dioxaborolano (1,3 g, 4,098 mmol), N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-bromo-pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-metil-carbamato de *tert*-butilo (2,707 g, 4,098 mmol) y  $K_2CO_3$  (1,133 g, 8,200 mmol) en tolueno (9,100 ml), EtOH (2,600 ml) y agua (2,600 ml) y la mezcla de reacción se desgasificó con un flujo de nitrógeno (5 ciclos). La mezcla se calentó a 75 °C durante 1,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió agua (5,2 ml). Después de agitar, las capas se separaron y la capa orgánica se secó ( $Na_2SO_4$ ), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se trituró con IPA y el precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con IPA (3 x 4 ml) y se secó al vacío a 50 °C para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (2,4 g, rendimiento del 76 %); RMN 1H (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,41 (s, 18H), 1,50 (s, 9H), 2,85 - 2,89 (m, 3H), 4,50 (s, 2H), 7,36 - 7,38 (m, 3H), 7,87 (d, 2H), 8,09 (d, 2H), 8,35 (d, 2H) y 9,06 (s, 1H) ppm.

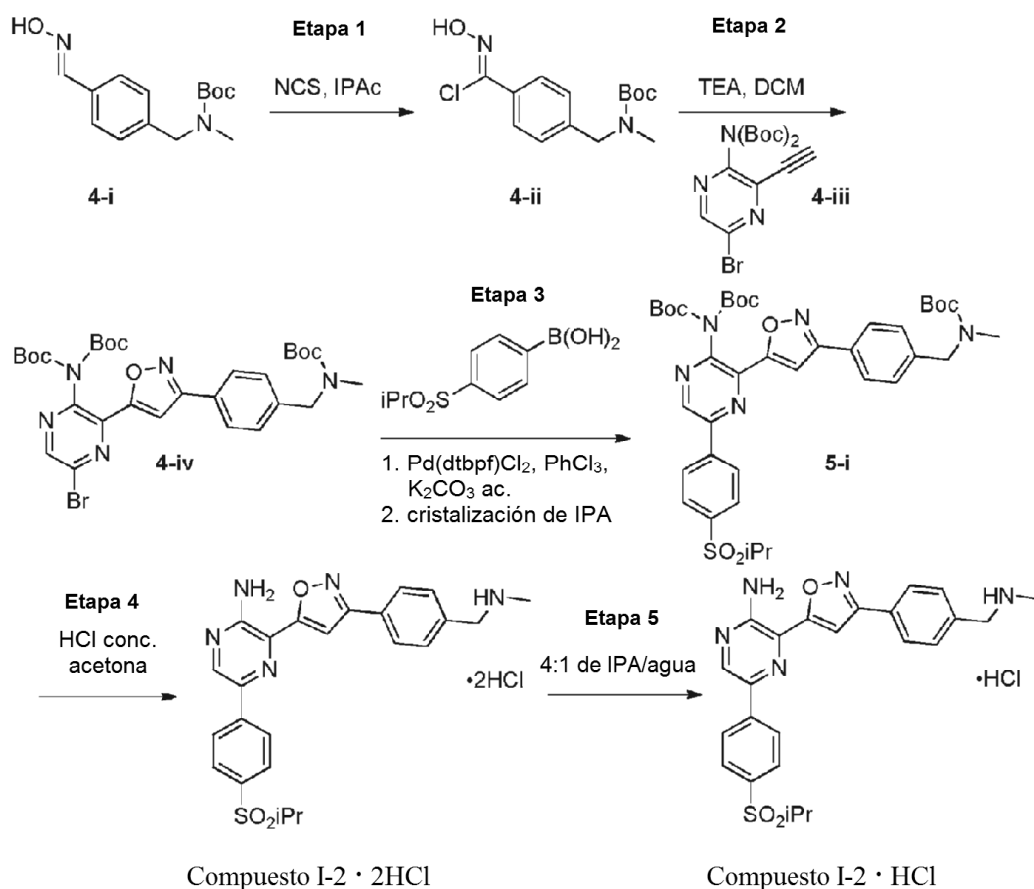
15 **Etapa 10:** 3-[3-[4-(Metilaminometil)fenil]isoxazol-5-il]-5-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonilfenil]pirazin-2-amina (compuesto II-4)



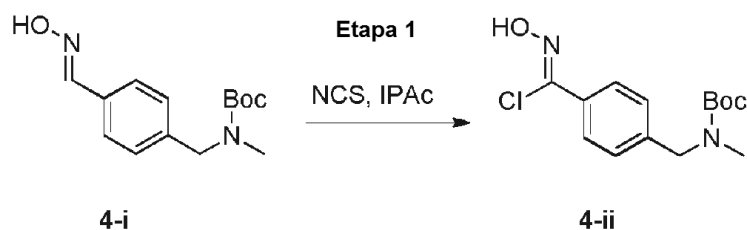
II-4

20 Se añadió HCl concentrado (3,375 g, 2,812 ml de 37 %p/p, 34,25 mmol) a una solución de N-[[4-[5-[3-[bis(*tert*-butoxicarbonil)amino]-6-[4-[1,2,2,2-tetradeuterio-1-(trideuteriometil)etil]sulfonilfenil]pirazin-2-il]isoxazol-3-il]fenil]metil]-N-metil-carbamato de *tert*-butilo (2,2 g, 2,854 mmol) en acetona (28,60 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante 7 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con acetona (2 x 4,5 ml) y se secó al vacío a 50 °C para dar la di-sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,42 g, rendimiento del 92 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO)  $\delta$  2,58 (t, 3H), 4,21 (t, 2H), 5,67 (s a, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,94 (d, 2H), 8,10 (d, 2H), 8,38 (d, 2H), 8,96 (s, 1H) y 9,33 (s a, 2H) ppm; EM (EN+) 471,8.

30 **Ejemplo 6: Síntesis de 5-(4-(*tert*-butilsulfonil)fenil)-3-(3-(4-(metilamino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-amina (Compuesto I-2)**



#### Etapa 1: Preparación del Compuesto 4-ii

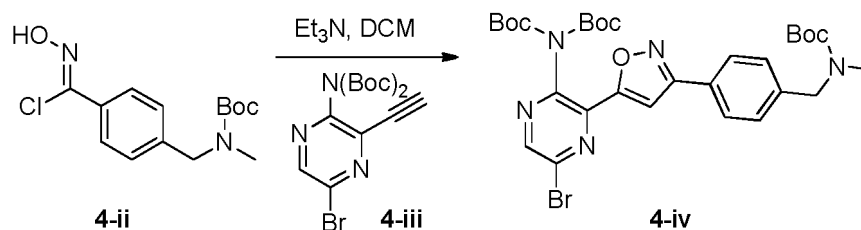


5

Una suspensión de 4-((hidroxiimino)metil)benzilo (metil)carbamato de *tert*-butilo (**Compuesto 4-i**) (650 g, 2,46 mol) en acetato de isopropilo (6,5 l) se agitó a temperatura ambiente. Se añadió N-clorosuccinimida (361 g, 2,71 mol) y la temperatura de reacción se mantuvo durante una noche a 20-28 °C para asegurar una reacción completa. La mezcla de reacción se diluyó con agua (3,25 l) y EtOAc (1,3 l) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 3,25 l), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró a una torta de húmeda. El concentrado se diluyó con heptano (9,1 l), se retiraron ~2 l de disolvente y después se agitó a temperatura ambiente durante 2-20 h. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con heptano (2 x 975 ml) y se secó para proporcionar el Compuesto 4-ii (692 g; rendimiento del 94 %, pureza del 99,2 % área según HPLC) en forma de un polvo incoloro.

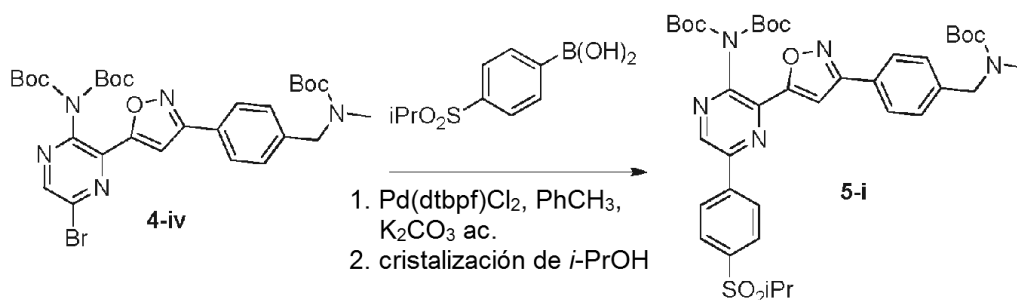
15

Etapa 2: Preparación de (5-bromo-3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(metil)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de *tert*-butilo (**Compuesto 4-iv**)



Una suspensión de *N*-(5-bromo-3-etinilpirazin-2-il)-*N*-*tert*-butoxicarbonilcarbamato de *tert*-butilo (**Compuesto 4-iii**) (1,59 kg, 3,99 mol) y 4-(cloro(hidroxiimino)metil)encil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *tert*-butilo (1,31 kg, 4,39 mol; 1,10 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12,7 l) se agitó a temperatura ambiente. Se añadió trietilamina (444 g, 611 ml, 4,39 mol) a la suspensión y la temperatura de reacción se mantuvo entre 20-30 °C durante 20-48 h para asegurar una reacción completa. La mezcla de reacción se diluyó con agua (8 l) y se mezcló concienzudamente, después las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (8 l), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y después se concentró hasta que quedó aproximadamente 1 l de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. El concentrado se diluyó con heptano (3,2 l) y se concentró de nuevo a 40 °C/0,03 MPa (200 torr) hasta que no se observó destilado. El concentrado se agitó y se diluyó adicionalmente con heptano (12,7 l) para precipitar un sólido. La suspensión se agitó durante una noche. El sólido se recogió por filtración, se lavó con heptano (2 x 3 l) y después se secó para proporcionar el **Compuesto 4-iv** (2,42 kg; rendimiento del 92 %, pureza del 100 % área según HPLC) en forma de un polvo de color castaño claro. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,61 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,31 (m, 3H), 4,46 (s a, 2H), 2,84 (d a, 3H), 1,57 (s, 2H), 1,44 (s a, 9H), 1,36 (s, 18H).

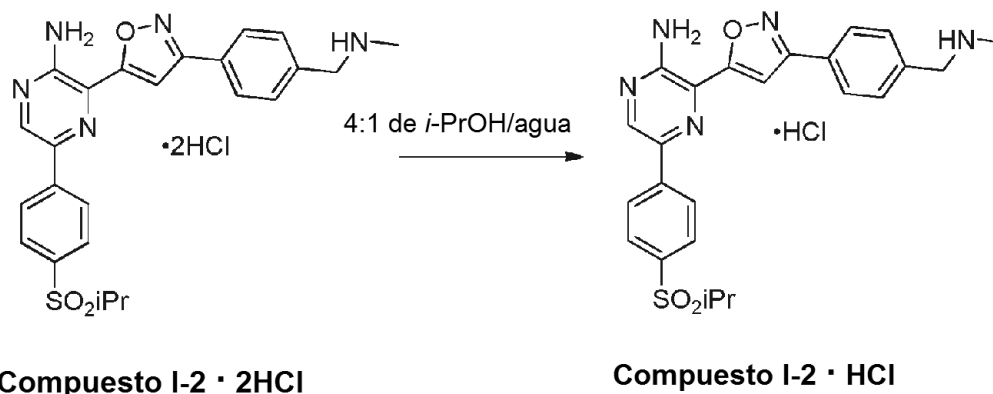
### Etapa 3: Preparación del Compuesto 5-i



Una mezcla de (5-bromo-3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(metil)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de *tert*-butilo (**Compuesto 4-iv**) (1,00 kg, 1,51 mol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (419 g, 3,02 mol) y ácido (4-(isopropilsulfonyl)fenil)borónico (345 g, 1,51 mol) en tolueno (7,0 l) y agua (2,0 l) se agitó y se desgasificó con N<sub>2</sub> durante 30 min. Después, se añadió 1,1'-bis(di-*f*-butilfosfino)ferrocen-dicloro-paladio (I) [Pd(dtbpf)Cl<sub>2</sub>; 19,7 g, 30,3 mmol] y se desgasificó 20 min más. La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante al menos 1 h para asegurar una reacción completa. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se filtró a través de Celite. El recipiente de reacción y el lecho de filtro se enjuagaron con tolueno (2 x 700 ml). Los filtrados se combinaron y las fases se separaron. La fase orgánica se agitó con resina Biotage MP-TMT (170 g) durante 4-20 h. La resina se retiró por filtración a través de Celite y el lecho de filtro se lavó con tolueno (2 x 700 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron casi a sequedad, después se diluyeron con *i*-PrOH (5,75 l) y se concentraron de nuevo. El concentrado se disolvió de nuevo en *i*-PrOH (5,75 l) caliente (45 °C) y después se enfrió a temperatura ambiente con agitación para inducir cristalización, después se agitó durante aproximadamente 16 - 20 h. El sólido se recogió por filtración, se lavó con *i*-PrOH (2 x 1 l) y se secó para proporcionar VRT-1018729 (967 g; 84 %) en forma de un polvo de color beige. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,04 (s, 1H), 8,33 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 8,06 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,85 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,34 (m, 3H), 4,47 (s a, 2H), 3,25 (sept., *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,85 (d a, 3H), 1,47 (s, 9H), 1,38 (s, 18H), 1,33 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H).

### Etapa 4: Preparación del Compuesto I-2 • 2HCl

Una solución del **Compuesto 5-i** (950 g, 1,24 mol) en acetona (12,35 l) se calentó a 40 °C, después se añadió HCl concentrado (1,23 kg, 1,02 l de 37 % p/p, 12,4 mol) a una velocidad tal para mantener la temperatura de reacción entre 40 - 45 °C durante al menos 5 h para asegurar una reacción completa. La suspensión se enfrió a menos de 30 °C y el sólido se recogió por filtración. La torta de filtró se lavó con acetona (2 x 950,0 ml), después se secó para proporcionar el Compuesto I-2 • 2HCl (578 g; rendimiento del 87 %, pureza del 99,5 % área según HPLC) en forma de un polvo de color amarillo. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 9,53 (d a, *J* = 4,8 Hz, 2H), 8,93 (s, 1H), 8,37 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,07 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,92 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 4,23 - 4,15 (m, 2H), 3,43 (sept., *J* = 6,8 Hz, 1H), 2,55 (t, *J* = 5,3 Hz, 3H), 1,17 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

**Etapa 5: Preparación del Compuesto I-2 • HCl a partir del Compuesto I-2 • 2HCl****5 Proceso en dos recipientes**

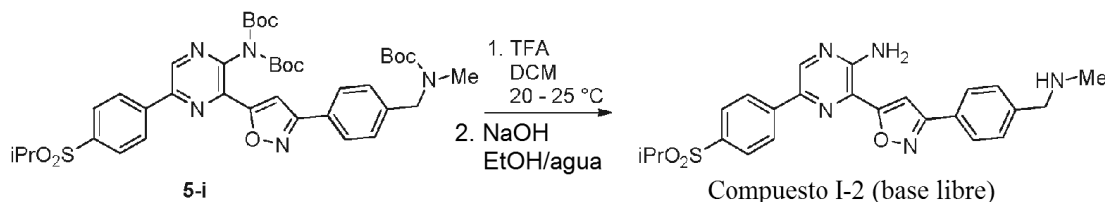
Una suspensión agitada del Compuesto I-2 • 2HCl (874 g, 1,63 mol) en *i*-PrOH (3,50 l) y agua (0,87 l) se calentó a 50 °C durante 1-2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 1-20 h. Se realizó XRPD en una pequeña muestra para asegurar que el Compuesto I-2 • 2HCl se había convertido en otra forma. La suspensión se enfrió a 5 °C y se agitó durante 1 h. El sólido se recogió por filtración, después la torta de filtró se lavó con 80/20 de *i*-PrOH/agua (2 x 874 ml) y se secó brevemente.

Si la XRPD mostró el Compuesto I-2 • HCl/forma anhidrato, el sólido se secó para proporcionar el Compuesto I-2 • HCl/anhidrato (836 g, rendimiento del 99 %, pureza 99,2 % área según HPLC) en forma de un sólido de color amarillo. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 9,38 (s, 2H), 8,96 (s, 1H), 8,46 - 8,34 (m, 2H), 8,10 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,94 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,23 (s a, 2H), 4,21 (s, 2H), 3,47 (sept., *J* = 6,7 Hz, 1H), 2,58 (s, 3H), 1,19 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H).

Si la XRPD mostró el Compuesto I-2 • HCl/forma hidrato, el sólido se agitó en *i*-PrOH recién preparado (3,50 l) y agua (0,87 l) a 50 °C durante al menos 2 h hasta que la XRPD muestre la conversión completa en el Compuesto I-2 • HCl/anhidrato. Después, la suspensión se enfrió a 5 °C y se agitó durante 1 h. El sólido se recogió por filtración, después la torta de filtró se lavó con 80/20 de *i*-PrOH/agua (2 x 874 ml), después se secó para proporcionar el Compuesto I-2•HCl/anhidrato.

**25 Procedimiento alternativo (un solo recipiente) utilizado**

El Compuesto I-2 • 2HCl (392 g) se cargó en el reactor. Se cargó 4:1 de IPA/agua (8 l) en un reactor y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se utilizó XRPD para confirmar la conversión en la forma monohidrato de mono-sal de HCl. La mezcla se calentó a 50 °C. Se añadieron semillas del Compuesto I-2 • HCl/anhidrato (16 g) y la mezcla se calentó a 50 °C hasta que la XRPD confirmó la conversión completa en la forma anhidrato deseada. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el sólido se lavó con 4:1 de IPA/agua (2 x 800 ml), después se secó para proporcionar el Compuesto I-2 • HCl/anhidrato (343 g, rendimiento del 94 %).

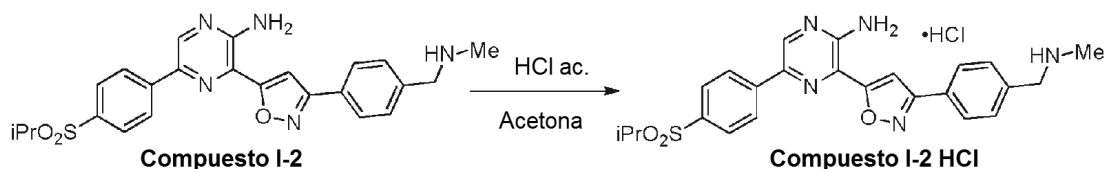
**Etapa 4: Método alternativo 1: Preparación de la base libre del Compuesto 1-2**

Una solución del **Compuesto 5-i** (100 g, 131 mmol) en DCM (200 ml) se agitó a temperatura ambiente, después se añadió TFA (299 g, 202 ml, 2,62 mol). Después de 2 h, la solución de reacción se enfrió a 5 °C. La mezcla de reacción se diluyó con EtOH (1,00 l) durante aproximadamente 5 min, dando como resultado una suspensión de color amarillo brillante. La suspensión se enfrió a 10 °C, después se añadió NaOH (1,64 l de 2,0 M, 3,28 mol) durante 30 min, después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El sólido se recogió por filtración, después se lavó con agua (2 x 400 ml), EtOH (2 x 200 ml), después se secó para proporcionar la base libre del Compuesto I-2 (57,0 g, rendimiento del 94 %, pureza de 99,7 % área según HPLC) en forma de un polvo fino de color amarillo. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 8,95 (s, 1H), 8,39 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,95 (dd, *J* = 11,6, 8,4 Hz, 4H),

7,78 (s, 1H), 7,51 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,21 (s a, 2H), 3,72 (s, 2H), 3,47 (sept.,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 1,19 (d,  $J = 6,8$  Hz, 6H).

**Etapa 4: Método alternativo 2: Preparación del Compuesto I-2 • HCl**

5



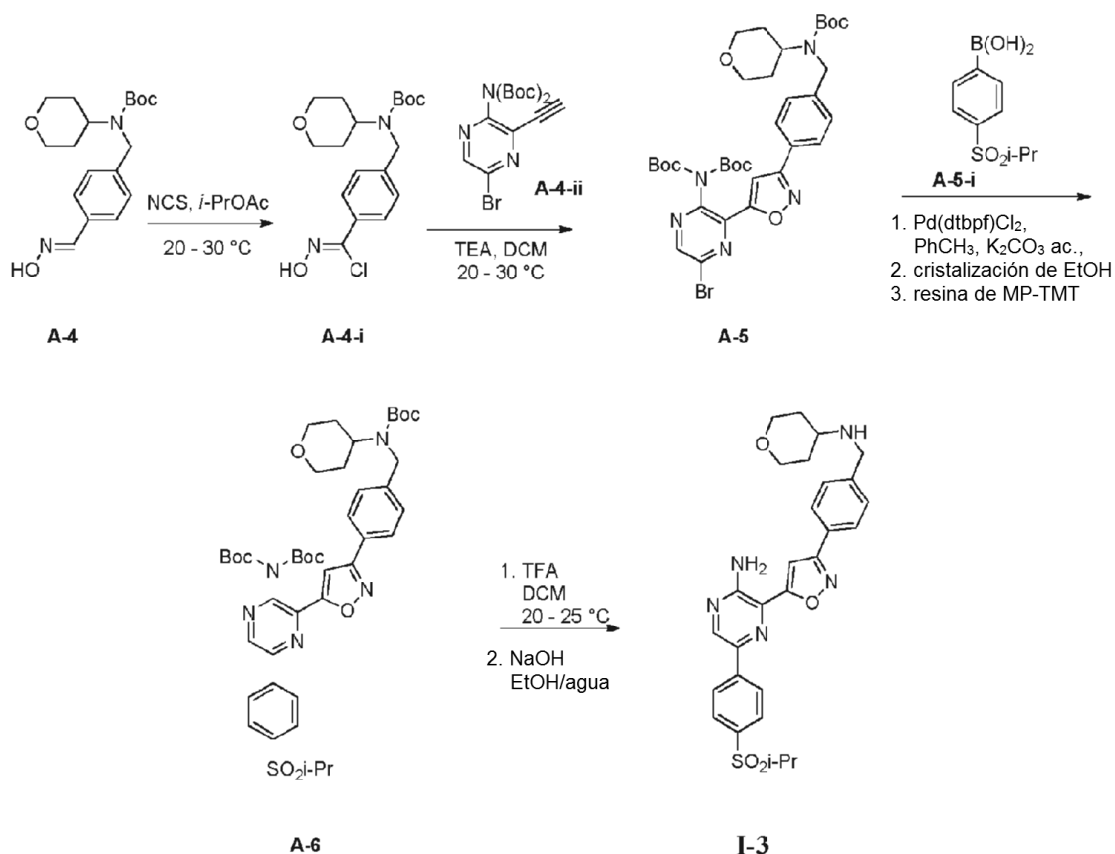
Una suspensión de la base libre del Compuesto 1-2 (10,0 g, 21,6 mmol) en acetona (80 ml) se agitó y se calentó a 35 °C. Se añadió una solución acuosa de HCl (11,9 ml de 2,0 M, 23,8 mmol) diluido con agua (8,0 ml) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 4 h. La suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente, después se agitó durante una noche. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con acetona (2 x 20 ml), después se secó para proporcionar 10,2 g de clorhidrato del Compuesto 1-2 (rendimiento del 95 %) en forma de un polvo de color amarillo.

10

**Ejemplo 7: Síntesis de 5-(4-(Isopropilsulfonil)fenil)-3-(3-(4-(tetrahidropiran-4-ilamino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-amina (Compuesto I-3)**

15

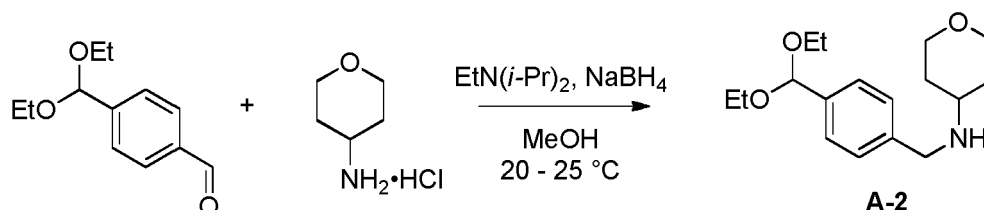
Esquema: Síntesis de ejemplo del Compuesto 1-3



20

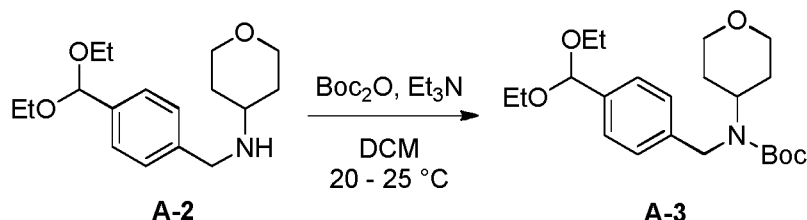
**Etapa 1: Preparación de N-(4-(dietoximetil)bencil)tetrahydro-2H-piran-4-amina (A-2)**





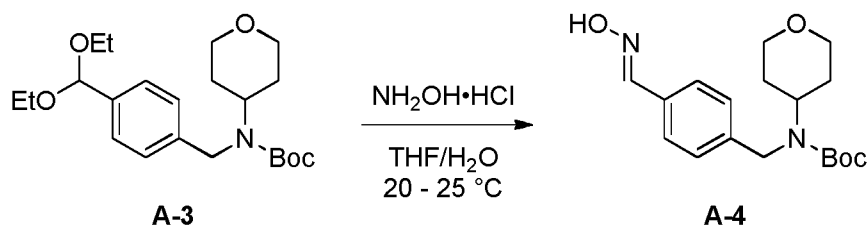
Una solución de clorhidrato de tetrahidro-2*H*-piran-4-amina (1,13 kg, 8,21 mol) en MeOH (14,3 l) se agitó a aproximadamente 20 °C, después se añadió Et<sub>3</sub>N (1,06 kg, 1,43 l, 8,21 mol). La mezcla se agitó durante al menos 5 min, después se añadió tereftalaldehído dietil acetal (1,43 kg, 6,84 mol) mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 20-25 °C. La mezcla se agitó durante al menos 45 min para formar la imina. Se añadieron cápsulas de NaBH<sub>4</sub> (414 g, 11,0 mol) mientras se mantenía la temperatura de reacción por debajo de aproximadamente 25 °C. La mezcla se agitó durante 1 h después de completarse la adición. La mezcla de reacción se inactivó añadiendo NaOH 1 M (13,7 l), después se extrajo con MTBE. La solución orgánica se lavó con salmuera (7,13 l), después se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró para proporcionar el Compuesto A-2 (2197 g; rendimiento del 109 %, pureza del 94,4 % área según HPLC) en forma de un aceite turbio. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,43 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 5,49 (s, 1H), 4,66 (s a, 1H), 4,03 - 3,91 (m, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,69 - 3,47 (m, 4H), 3,38 (td, *J* = 11,6, 2,1 Hz, 2H), 2,78 - 2,65 (m, 1H), 1,90 - 1,81 (m, 2H), 1,53 - 1,37 (m, 2H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H).

**15 Etapa 2: Preparación de 4-(dietoximetil)encil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *tert*-butilo (A-3)**



Una mezcla de *N*-(4-(dietoximetil)encil)tetrahidro-2*H*-piran-4-amina (A-2) (2195 g, 7,48 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (22,0 l) se agitó a 25 °C, después se añadió dicarbonato de di-*t*-butilo (1,71 kg, 7,86 mol). Después, se añadió Et<sub>3</sub>N (795 g, 1,10 l) mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 20 - 25 °C. La mezcla de reacción se agitó a aproximadamente 25 °C durante 12 - 20 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se enfrió a aproximadamente 20 °C y se inactivó con ácido cítrico acuoso 0,5 M (7,48 l, 3,74 mol) mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 20 - 25 °C. La fase orgánica se recogió, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> sat. (6,51 l, 7,48 mol), se lavó con salmuera (6,59 l) y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), después se concentró para proporcionar el 4-(dietoximetil)encil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *tert*-butilo (A-3) (2801 g; rendimiento del 95 %, pureza del 98,8 % área según HPLC) en forma de un aceite espeso de color ámbar. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,40 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 5,49 (s, 1H), 4,39 (s a, 3H), 3,93 (dd a, *J* = 10,8, 3,8 Hz, 2H), 3,67 - 3,47 (m, 4H), 3,40 (m a, 2H), 1,68 - 1,59 (m, 4H), 1,39 (s a, 9H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H).

**30 Etapa 3: Preparación de 4-((hidroxiimino)metil)encil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *tert*-butilo (A-4)**

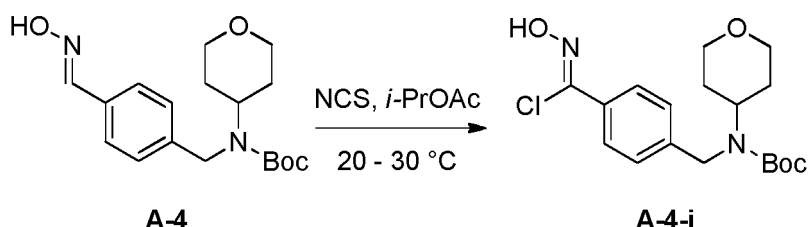


Una solución de 4-(dietoximetil)encil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *tert*-butilo (A-3) (2,80 kg, 7,12 mol) en THF (28,0 l) y agua (2,80 l) se agitó a aproximadamente 20 °C. Se añadió clorhidrato de hidroxilamina (593 g, 8,54 mol) mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 20-25 °C. La mezcla de reacción se agitó a aproximadamente 20 °C durante 16 - 20 h, después se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8,4 l) y salmuera al 50 % (11,2 l) y se agitó durante al menos 5 min. Después, las fases se separaron, la fase orgánica se lavó con salmuera al 50 % (2 x 2,8 l), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. El concentrado se diluyó con MeOH (1,4 l) y se concentró de nuevo. El concentrado se diluyó con MeOH (14,0 l) y se transfirió a un recipiente de reacción. La solución se calentó a aproximadamente 25 °C, después se añadió agua (14,0 l) durante aproximadamente 1 - 1,5 h; después, se añadieron aproximadamente 10 l de agua, la mezcla se sembró y se observó una suspensión turbia. Se añadió más cantidad de agua (8,4 l) durante 1,5 h para precipitar adicionalmente el producto. Después de madurar, el sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con heptano (5,6 l) y se secó para proporcionar 4-

((hidroxiimino)metil)bencil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *terc*-butilo (A-4) (1678 g; 71 %, pureza del 91,5 % área según HPLC) en forma de un polvo de color blanquecino. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,12 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 4,40 (s a, 3H), 3,96 (dd, *J* = 10,4, 3,6 Hz, 2H), 3,41 (m a, 2H), 1,69 - 1,61 (m, 4H), 1,39 (s a, 9H).

5

**Etapa 4: Preparación de (tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *terc*-butil 4-(cloro(hidroxiimino)metil)bencilo (A-4-i)**



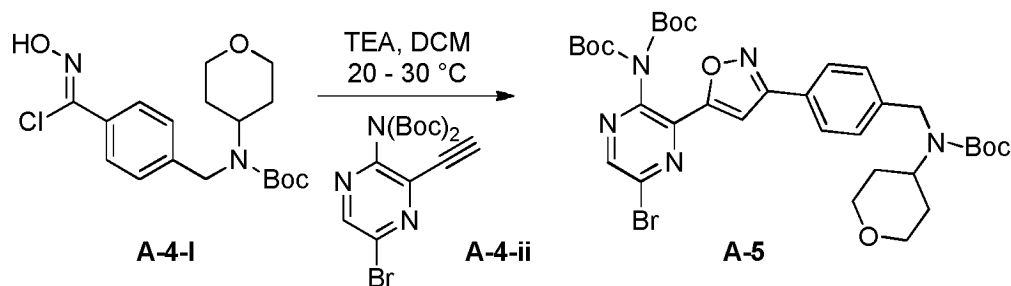
10

Una suspensión de 4-((hidroxiimino)metil)bencil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de (*E*)-*terc*-butilo (A-4) (1662 g, 4,97 mol) en *i*-PrOAc (16,6 l) se agitó a 20 °C en un reactor. Se añadió *N*-clorosuccinimida (730 g, 5,47 mol), manteniendo aproximadamente 20 °C. La suspensión se agitó a aproximadamente 20 °C para completar la reacción. La suspensión se diluyó con agua (8,3 l) y se agitó para disolver el sólido. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (8,3 l). La fase orgánica se concentró, después se diluyó con *i*-PrOAc (831 ml). Se añadió lentamente heptano (13,3 l; 8 V) para inducir cristalización. Después, la suspensión espesa se agitó durante 1 h. El sólido se recogió por filtración; la torta de filtró se lavó con heptano (2 x 1,6 l; 2 x 1 v) y se secó para proporcionar 4-(cloro(hidroxiimino)metil)bencilo (tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de (*Z*)-*terc*-butilo (A-4-i) (1628 g; 89 %, pureza del 98,0 % área según HPLC) en forma de un polvo de color blanco.

15

20

**Etapa 5: Preparación de (5-bromo-3-(3-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)(*terc*-butoxicarbonil)carbamato de *terc*-butilo (A-5)**



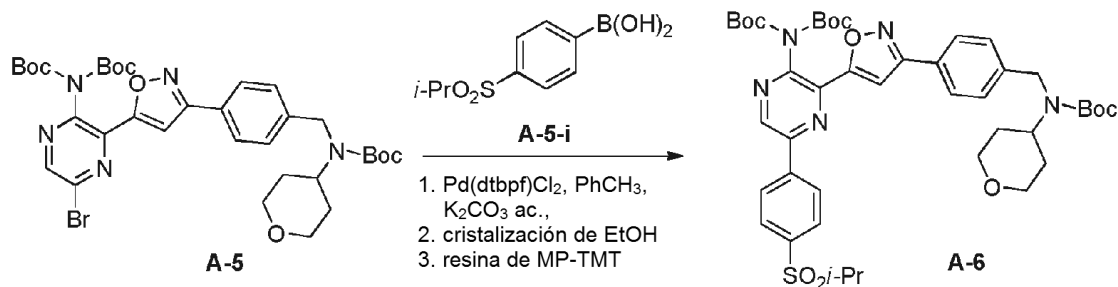
25

Una solución de 4-(cloro(hidroxiimino)metil)bencil(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamato de *terc*-butilo (A-4-i) (1,60 kg, 4,34 mol) y *N*-(5-bromo-3-etinilpirazin-2-il)-*N*-*terc*-butoxicarbonilcarbamato de *terc*-butilo (**Compuesto A-4-ii**) (1,73 kg, 4,34 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12,8 l) se agitó a 20 °C. Se añadió Et<sub>3</sub>N (483 g, 665 ml; 4,77 mol) y la temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 30 °C. La suspensión se agitó a 20 °C para completar la reacción, después se diluyó con agua (8,0 l) y se agitó. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (8,0 l) y después se concentró. Se añadió *i*-PrOAc (1,6 l) y la mezcla se calentó a 50 °C. Se añadió lentamente heptano (4,0 l), después la suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Se añadió más cantidad de heptano (7,2 l) a la suspensión y se agitó durante 1 h. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con heptano (2 x 1,6 l) y se secó para proporcionar (5-bromo-3-(3-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)(*terc*-butoxicarbonil)carbamato de *terc*-butilo (A-5) (2,478 kg; 78 %, pureza del 97,8 % área según HPLC) en forma de un polvo fino de color castaño. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,60 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,31 (m, 3H), 4,42 (m a, 3H), 4,03 - 3,82 (m, 2H), 3,38 (s a, 2H), 1,60 (m, 4H), 1,36 (s, 27H).

30

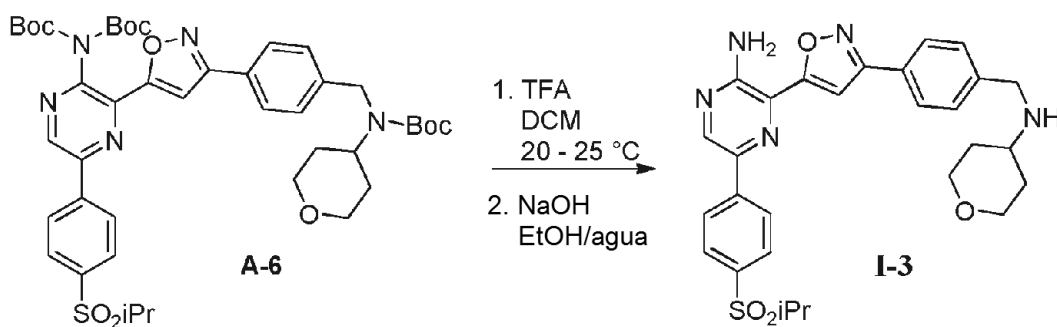
35

**Etapa 6: Preparación de *terc*-butoxicarbonil(3-(3-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)-5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)pirazin-2-il)carbamato de *terc*-butilo**



Una mezcla de (5-bromo-3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-il)(*tert*-butoxicarbonil)carbamato de *tert*-butilo (A-5) (425 g, 582 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (161 g, 1,16 mol; 2,0 equiv.) y ácido (4-(isopropilsulfonyl)fenil)borónico (133 g, 582 mmol) en tolueno (2,98 l) y agua (850 ml) se agitó y se desgasificó con  $\text{N}_2$  a temperatura ambiente. El catalizador [1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II),  $\text{Pd}(\text{dtbpf})\text{Cl}_2$ ; 1,90 g, 2,91 mmol) se añadió y la mezcla se desgasificó durante 10 min más. La mezcla se calentó a 70 °C hasta que se completó la reacción. La mezcla se enfría a 50 °C, se diluyó con agua (850 ml) y se filtró a través de un lecho de Celite. Las fases se separaron. La fase orgánica se concentró, después el residuo se diluyó con EtOH (1,70 l) y se concentró de nuevo. Con mezclado a 40 °C, el concentrado se diluyó con EtOH (1,70 l) para inducir cristalización. La suspensión se enfrió a 20 °C y se agitó durante 4 h. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtró se lavó con EtOH (2 x 425 ml) y se secó al aire para proporcionar *tert*-butoxicarbonil(3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)-5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)pirazin-2-il)carbamato de *tert*-butilo (A-6) en forma de un polvo de color beige. El sólido se disolvió en THF (2,13 l) y se suspendió con resina Biotage MP-TMT (48 g) a temperatura ambiente. La resina se retiró por filtración y el filtrado se concentró para retirar la mayoría del THF. El concentrado se diluyó con EtOH (970 ml) y se concentró de nuevo a aproximadamente la mitad del volumen original. El concentrado se diluyó de nuevo con EtOH (970 ml) y se mezcló durante 1 h a 40 °C. La suspensión se enfrió a temperatura ambiente y el sólido se recogió por filtración, después se secó para proporcionar *tert*-butoxicarbonil(3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)-5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)pirazin-2-il)carbamato de *tert*-butilo (A-6) (416 g; rendimiento del 86 %, pureza del 99,3 % área según HPLC) en forma de un polvo de color blanco. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,04 (s, 1H), 8,38 - 8,28 (m, 2H), 8,10 - 8,01 (m, 2H), 7,82 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,34 (m, 3H), 4,44 (s a, 2H), 3,94 (dd,  $J = 10,5, 3,5$  Hz, 2H), 3,40 (s a, 2H), 3,25 (sept.,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 1,65 (m, 4H), 1,38 (s a, 27H), 1,33 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H).

**Etapa 7: Preparación de forma de base libre de 5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)-3-(3-(4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-amina (I-3)**



Una suspensión de *tert*-butoxicarbonil(3-(3-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)-5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)pirazin-2-il)carbamato de *tert*-butilo (A-6) (410 g; 492 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (410 ml) se agitó a temperatura ambiente en un matraz. Se añadió TFA (841 g, 568 ml; 7,4 mol) mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 20-25 °C. La solución se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 h cuando el análisis mostró la finalización de la reacción. La solución se enfrió a aproximadamente 5-10 °C y se diluyó con EtOH (3,3 l) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 20 °C. Se añadió una solución acuosa 5,0 M de NaOH (1,77 l; 8,85 mol) mientras se dejaba que la temperatura de reacción se elevara de aproximadamente 14 °C a aproximadamente 42 °C. La suspensión se calentó a 70 - 75 °C durante 6 h mientras se retiraba el destilado. La suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente. El sólido se recogió por filtración y la torta de filtro se lavó con agua (4 x 1,64 l). La torta de filtró se lavó con EtOH (2 x 820 ml) y se secó para proporcionar 5-(4-(isopropilsulfonyl)fenil)-3-(3-(4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)amino)metil)fenil)isoxazol-5-il)pirazin-2-amina (Compuesto I-1) (257 g; rendimiento del 98 %, pureza del 99,5 % área según HPLC) en forma de un polvo

de color amarillo.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8,94 (s, 1H), 8,44 - 8,33 (m, 2H), 7,94 (t,  $J = 8,2$  Hz, 4H), 7,76 (s, 1H), 7,53 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,20 (s, 2H), 3,83 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,46 (sept.,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 3,25 (td,  $J = 11,4, 2,1$  Hz, 2H), 2,66 - 2,54 (m, 1H), 1,79 (dd a, 2H), 1,36 - 1,22 (m, 2H), 1,19 (d,  $J = 6,8$  Hz, 6H). RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO)  $\delta$  167,57, 151,76, 141,07, 137,58, 135,75, 129,16, 128,53, 126,57, 126,41, 125,69, 124,52, 102,13, 65,83, 54,22, 52,60, 49,19, 33,18, 15,20.

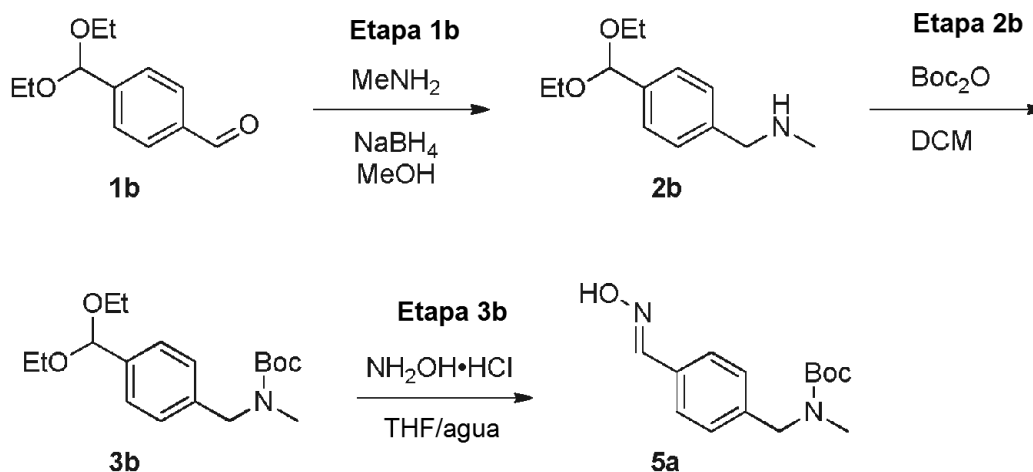
#### Datos analíticos del compuesto

Comp. N.º	CLEM ES +	CLEM (Tr min)	RMN H
I-1	---	---	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO) $\delta$ 9,63 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H), 9,05 (s, 1H), 8,69 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,16 - 8,03 (m, 3H), 7,84 (t, $J = 4,1$ Hz, 3H), 7,34 (s a, 2H), 4,40 - 4,18 (m, 2H), 3,94 (dd, $J = 11,2, 3,9$ Hz, 2H), 3,32 (t, $J = 11,2$ Hz, 3H), 2,17 - 2,00 (m, 2H), 1,81 (s, 6H), 1,75 (dd, $J = 12,1,4,3$ Hz, 2H).
I-2	---	---	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO) $\delta$ 8,94 (s, 1H), 8,44 - 8,33 (m, 2H), 7,94 (t, $J = 8,2$ Hz, 4H), 7,76 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,20 (s, 2H), 3,83 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,46 (sept., $J = 6,8$ Hz, 1H), 3,25 (td, $J = 11,4, 2,1$ Hz, 2H), 2,66 - 2,54 (m, 1H), 1,79 (dd a, 2H), 1,36 - 1,22 (m, 2H), 1,19 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H).
II-1	466,2	0,83	RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO) 9,10 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 8,97 (s, 1H), 8,42 - 8,37 (m, 2H), 8,15 - 8,08 (m, 2H), 7,99 - 7,92 (m, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,75 - 7,69 (m, 2H), 7,22 (s a, 2H), 3,48 (sept., $J = 6,8$ Hz, 1H), 2,60 (t, $J = 5,4$ Hz, 3H), 1,20 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H).
II-2	469,1	0,82	RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO) 9,14 (s, 2H), 8,96 (s, 1H), 8,42 - 8,36 (m, 2H), 8,13 - 8,08 (m, 2H), 7,99 - 7,91 (m, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,78 - 7,68 (m, 2H), 7,21 (s, 2H), 3,48 (dc, $J = 13,6, 6,7$ Hz, 1H), 1,20 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H).
II-3	467,2	0,78	RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO) 9,11 (s, 2H), 8,97 (s, 1H), 8,39 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 8,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,95 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,72 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,23 (s, 2H), 4,25 - 4,19 (m, 2H), 3,47 (tt, $J = 14,0, 6,9$ Hz, 1H), 1,20 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H).
II-4	471,8	0,83	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO) $\delta$ 2,58 (t, 3H), 4,21 (t, 2H), 5,67 (s a, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,94 (d, 2H), 8,10 (d, 2H), 8,38 (d, 2H), 8,96 (s, 1H) y 9,33 (s a, 2H) ppm

#### INTERMEDIOS

##### Ejemplo 8: Preparación de Oxima 5a

#### ESQUEMA BB:

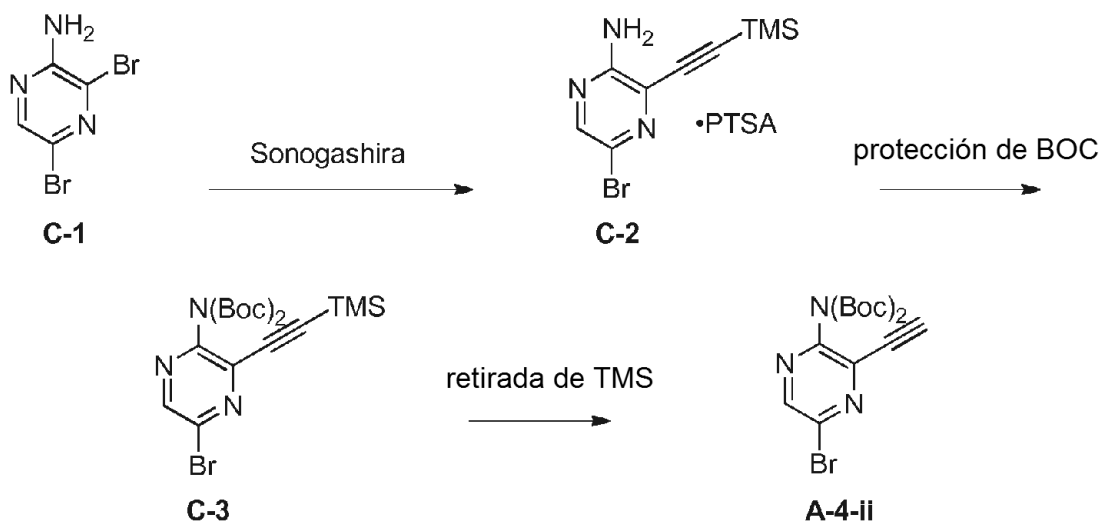


**Etapa 1b**

Se añadió MeOH (28,00 l) y 4-(dietoximetil)benzaldehído (Compuesto 1b) (3500 g, 16,81 mol) en un reactor a 20 °C. Se añadió metilamina, 33 % en EtOH (1,898 kg, 2,511 l de 33 %p/p, 20,17 mol) manteniendo 20-30 °C, después se agitó durante 1,5 h para formar la imina. Se añadieron cápsulas de NaBH<sub>4</sub> (381,7 g, 10,09 mol) manteniendo la temperatura entre 20 - 30 °C. Se agitó a temperatura ambiente durante al menos 30 min para asegurar una reacción completa. Se añadió NaOH acuoso (16,81 l de 2,0 M, 33,62 mol) manteniendo aproximadamente 20 °C. Se añadió MTBE (17,50 l) y salmuera (7,0 l), se agitó durante al menos 5 min, después se dejó que las fases se separan. La capa acuosa se extrajo con MTBE (7,0 l), después las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera (3,5 l), después se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y después se concentraron a 6 l. La mezcla bifásica se transfirió a un embudo de decantación y la fase acuosa se retiró. La fase orgánica se concentró para proporcionar 1-(4-(dietoximetil)fenil)-N-metilmetanamina (Compuesto 2b) (3755 g, 16,82 mol, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,43 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,31 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 5,49 (s, 1H), 3,75 (s, 2H), 3,68 - 3,46 (m, 4H), 2,45 (s, 3H), 1,23 (t, J = 7,1 Hz, 6H).

**Etapas 2b y 3b**

Se añadieron 2-MeTHF (15,00 l) y 1-(4-(dietoximetil)fenil)-N-metilmetanamina (Compuesto 2b) (3750 g, 16,79 mol) a un reactor a 20 °C. Se añadió una solución de Boc anhídrido (3,848 kg, 4,051 l, 17,63 mol) en 2-MeTHF (7,500 l) manteniendo aproximadamente 25 °C. Se agitó durante al menos 30 min para asegurar la conversión completa en 4-(dietoximetil)bencil(metil)carbamato de *tert*-butilo (Compuesto 3b), después se añadió una solución de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,192 kg, 8,395 mol) en agua (11,25 l). Se calentó a 35 °C, después se añadió una solución de clorhidrato de hidroxilamina (1,750 kg, 25,18 mol) en agua (3,75 l), después se agitó durante al menos 6 h para asegurar una reacción completa. Se enfrió a 20 °C, se detuvo la agitación y se retiró la fase acuosa. La capa orgánica se lavó con salmuera (3,75 l), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a aproximadamente 9 l. Se añadió heptano (15,00 l) y 4-((hidroxiiimino)metil)bencil(metil) carbamato de *tert*-butilo cristalino (Compuesto 5a) (porciones de 1,0 g cada 10 min) hasta que la nucleación fue evidente, después se concentró para proporcionar una suspensión sólida. Se añadió heptano (3,75 l), después se enfrió a temp. ambiente y se filtró. Se lavó con heptano (5,625 l), después se secó para proporcionar 4-((hidroxiiimino)metil) bencil(metil)carbamato de *tert*-butilo (Compuesto 5a) (4023 g, 15,22 mol, rendimiento del 91 %, pureza de 97,2 %área según HPLC) en forma de un sólido incoloro. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,13 (s, 1H), 7,54 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,25 (d a, 2H), 4,44 (s a, 2H), 2,83 (d a, 3H), 1,47 (s a, 9H).

**Esquema CC: Síntesis del Intermedio A-4-ii**

El compuesto de fórmula A-4-ii puede prepararse de acuerdo con las etapas indicadas en el Esquema C. Las reacciones de acoplamiento de Sonogashira son conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Chem. Rev. 2007, 874-922). En algunas realizaciones, las condiciones de acoplamiento de Sonogashira adecuadas comprenden añadir 1 equivalente del compuesto de fórmula C-1, 1 equivalente de TMS-acetileno, 0,010 equivalentes de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0,015 equivalentes de CuI y 1,20 equivalentes de NMM en isopropanol. El producto puede aislarse añadiendo agua a la mezcla de reacción alcohólica.

Pueden formarse sales de amina de un producto disolviendo la amina en un disolvente orgánico común y añadiendo un ácido. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo), éteres (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano), ésteres (por ejemplo, EtOAc, IPAC) y otros disolventes apróticos. Los ejemplos de ácidos adecuados incluyen, pero sin limitación, HCl,

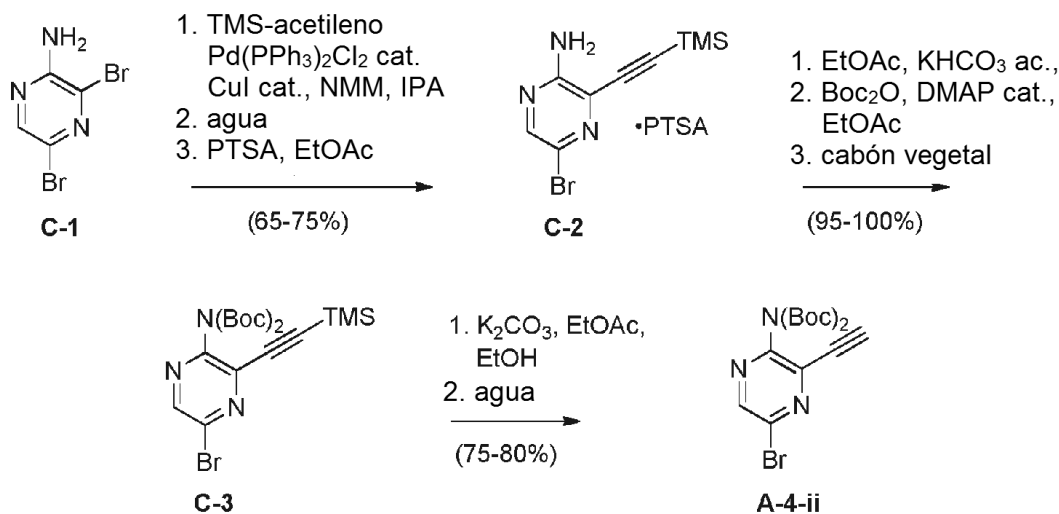
H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MSA y PTSA. En algunas realizaciones, el disolvente es IPAC y el ácido es PTSA. En algunas realizaciones, la sal de adición de ácidos se convierte de nuevo en la base de amina libre en presencia de un disolvente adecuado y una base adecuada. Los disolventes adecuados incluyen EtOAc, IPAC, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, cloroformo, 2-MeTHF, y las bases adecuadas incluyen NaOH, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KOH, KHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es EtOAc y la base adecuada es KHCO<sub>3</sub>.

La amina del Compuesto C-2 puede protegerse con diversos grupos protectores de amina, tales como Boc (*tert*-butoxicarbonilo). La introducción de grupos protectores Boc es conocida en la técnica (véase, por ejemplo, Protecting Groups in Organic Synthesis, Greene y Wuts). En algunas realizaciones, las condiciones adecuadas implican añadir 1,00 equivalente de la amina, 2,10 equivalentes de dicarbonato de di-*tert*-butilo y 0,03 equivalentes de DMAP en EtOAc.

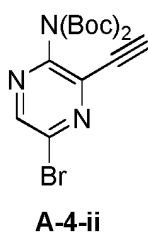
La reducción en Pd se consigue mediante tratamiento con un eliminador de metales (gel de sílice, resinas funcionalizadas, carbón vegetal). En algunas realizaciones, las condiciones adecuadas implican añadir carbón vegetal.

El grupo protector de TMS (trimetilsililo) en el Compuesto C-3 puede retirarse mediante condiciones conocidas para un experto en la materia. En algunas realizaciones, las condiciones de retirada de TMS comprenden hacer reaccionar el compuesto protegido con TMS con una base adecuada en un disolvente adecuado. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen disolventes clorados (por ejemplo, diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y cloroformo), éteres (por ejemplo, THF, 2-MeTHF y dioxano), ésteres (por ejemplo, EtOAc, IPAC), otros disolventes apróticos y disolventes alcohólicos (por ejemplo, MeOH, EtOH, iPrOH). Los ejemplos de bases adecuadas incluyen, pero sin limitación, (por ejemplo, NaOH, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). En ciertas realizaciones, las condiciones adecuadas comprenden añadir 1,00 equivalentes del acetileno protegido con TMS, 1,10 equivalentes de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EtOAc y EtOH. En algunas realizaciones, el disolvente alcohólico, tal como EtOH, se añade en último lugar en la reacción. En algunas realizaciones, el producto de acetileno se aísla añadiendo agua.

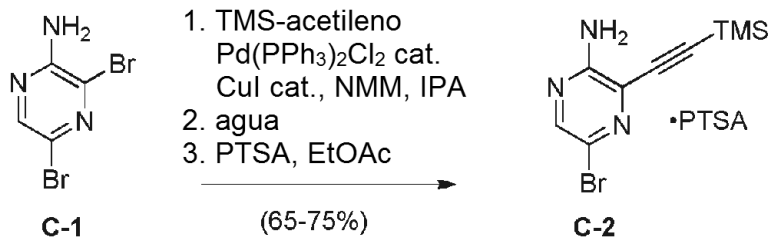
#### Esquema DD: Síntesis de ejemplo del Compuesto A-4-ii



#### Ejemplo 9: Síntesis del Compuesto A-4-ii

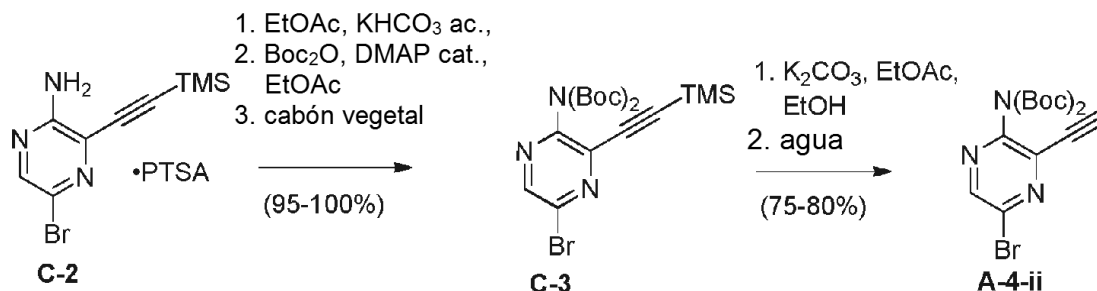


#### Etapa 1: Preparación de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (Compuesto C-2)



Se cargó isopropanol (8,0 l) en un reactor, después se agitó y se roció con una corriente de N<sub>2</sub>. Se añadió 3,5-dibromopirazin-2-amina (Compuesto C-1) (2000 g, 7,91 moles), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (56 g, 0,079 moles), Cul (23 g, 0,119 moles) y NMM (1043 ml, 9,49 moles) en el reactor en una atmósfera de N<sub>2</sub>. La temperatura de reacción se ajustó a 25 °C. El reactor se purgó con N<sub>2</sub> realizando al menos tres ciclos de vacío/purga con N<sub>2</sub>. Se cargó TMS-acetileno (1,12 l, 7,91 moles) a la mezcla de reacción y la temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 30 °C. Cuando se completó la reacción, la temperatura de la mezcla de reacción se disminuyó a 15 °C, después se añadió agua (10 l) y se agitó durante al menos 2 h. El sólido se recogió por filtración, lavando el sólido con 1:1 de IPA/agua (2 x 6 l). La torta de filtro se secó al vacío, después se cargó en un reactor y se disolvió en EtOAc (12,5 l). Se cargó hidrato de PTSA (1,28 kg, 6,72 mol) en forma de un sólido en el reactor. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante al menos 5 h, después el sólido se recogió por filtración, se lavó con 1:1 de heptano/EtOAc (3,5 l), seguido de heptano (3,5 l). La torta de filtro se secó para proporcionar 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (Compuesto C-2) en forma de una sal de PTSA (2356 g, rendimiento del 67 %, pureza del 98,9 % área según HPLC). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 8,12 (s, 1H), 7,48 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,12 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 0,26 (s, 9H).

### Etapas 2 y 3



20

### Etapas 2 y 3: Preparación de N-terc-butoxicarbonil-N-[5-bromo-3-((trimetilsilil) etnil)pirazin-2-il]carbamato de terc-butilo (Compuesto C-3)

Una solución de sal de PTSA de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (Compuesto C-2) (2350 g, 5,31 mol) en EtOAc (11,5 l) se agitó con una solución ac. al 20 % p/p de KHCO<sub>3</sub> (4,5 kg, 1,5 equiv.) durante al menos 30 min. Las capas se separaron y la capa orgánica se concentró, después se disolvió en EtOAc (7 l) y se añadió en un reactor. Se añadió DMAP (19,5 g, 0,16 mol), seguido de una pequeña adición de una solución de Boc<sub>2</sub>O (2436 g, 11,16 mol) en EtOAc (3 l). La reacción se agitó durante al menos 30 min para asegurar una reacción completa, después se añadieron carbón vegetal activado (Darco G-60, 720 g) y Celite (720 g) y se agitó durante al menos 2 h. La mezcla filtró lavando el lecho sólido con EtOAc (2 x 1,8 l). El filtrado se concentró para proporcionar N-terc-butoxicarbonil-N-[5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-il]carbamato de terc-butilo (Compuesto C-3) que se usó directamente en la siguiente etapa.

### Etapas 2 y 3: Preparación de N-(5-bromo-3-etnilpirazin-2-il)-N-terc-butoxicarbonilcarbamato de terc-butilo (Compuesto A-4-ii)

Se cargó K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (811 g, 5,87 mol) en un reactor, seguido de una solución del Compuesto C-3 (2300 g, 4,89 mol) disuelto en EtOAc (4,6 l), se inició la agitación. Se añadió lentamente EtOH (9,2 l) y la mezcla se agitó durante al menos 1 h para asegurar que la reacción estaba completa, después se añadió agua (4,6 l) y se agitó durante al menos 2 h. El sólido se recogió por filtración y se lavó con 1:1 de EtOH/agua (4,6 l, seguido de 2,3 l), seguido de EtOH (2,3 l). La torta de filtro se secó para proporcionar N-(5-bromo-3-etnilpirazin-2-il)-N-terc-butoxicarbonilcarbamato de terc-butilo (Compuesto A-4-ii) (1568 g, rendimiento del 78 %, 97,5 % área según HPLC). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,54 (s, 1H), 3,52 (s, 1H), 1,42 (s, 18H).

45

### Formas sólidas del Compuesto I-2

El Compuesto I-2 ha sido preparado en diversas formas sólidas, incluyendo sales y cosolvatos. Las formas sólidas de la presente divulgación son útiles en la fabricación de medicamentos para el tratamiento del cáncer. Una realización proporciona el uso de una forma sólida descrita en el presente documento para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer pancreático o cáncer de pulmón de células no pequeñas. Otra realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma sólida descrita en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los solicitantes describen en el presente documento cinco nuevas formas sólidas del Compuesto 1-2. Los nombres y la estequiometría para cada una de estas formas sólidas se proporcionan a continuación en la Tabla S-1:

Tabla S-1

Ejemplo	Formas	Estequiometría
Ejemplo 13	Base libre del Compuesto I-2	N/A
Ejemplo 14	Compuesto I-2 • HCl	1:1
Ejemplo 15	Compuesto I-2 • 2HCl	1:2
Ejemplo 16	Compuesto I-2 • HCl • H <sub>2</sub> O	1:2:1
Ejemplo 17	Compuesto I-2 • HCl • 2H <sub>2</sub> O	1:1:2

Se adquirieron espectros de RMN de estado sólido en el espectrómetro de gran calibre Bruker-Biospin 400 MHz Advance III, equipado con una sonda Bruker-Biospin 4 mm HFX. Las muestras se empaquetaron en rotores de ZrO<sub>2</sub> de 4 mm (aproximadamente 70 mg o menos, dependiendo de la disponibilidad de la mezcla). Se aplicó una velocidad de giro de ángulo mágico (MAS) de típicamente 12,5 kHz. La temperatura del cabezal de la sonda se ajustó a 275K para minimizar el efecto del calentamiento por fricción durante el giro. El tiempo de relajación de protones se midió usando el experimento de relajación de recuperación de saturación <sup>1</sup>H MAS T<sub>1</sub> para establecer un retraso de reciclado adecuado del experimento MAS de polarización cruzada de <sup>13</sup>C (CP). El retraso de reciclado del experimento MAS de CP de <sup>13</sup>C se ajustó para que fuera al menos 1,2 veces más largo que el tiempo de relajación de <sup>1</sup>H T<sub>1</sub> medido para maximizar la proporción de señal a ruido del espectro de carbono. El tiempo de contacto de CP del experimento MAS de CP de <sup>13</sup>C se ajustó a 2 ms. Se empleó un pulso de protón CP con rampa lineal (de 50 % a 100 %). La coincidencia de Hartmann-Hahn se optimizó en una muestra de referencia externa (glicina). Se adquirieron espectros de carbono con desacoplamiento SPINAL 64 con una fuerza de campo de aproximadamente 100 kHz. El desplazamiento químico se contrastó con un patrón externo de adamantano con su resonancia de campo ascendente establecida a 29,5 ppm.

Los datos de XRPD para los Ejemplos 13-14 se midieron en sistema Bruker D8 Advance (Asset V014333) equipado con una fuente de Cu en tubo cerrado herméticamente y un detector Vantec-1 (Bruker AXS, Madison, WI) a temperatura ambiente. El generador de rayos X se hizo funcionar a un voltaje de 40 kV y una corriente de 40 mA. La muestra de polvo se puso en un soporte de silicona poco profundo. Los datos se registraron en un modo de exploración por reflexión (acoplado bloqueado) a lo largo de un intervalo de 3°-40° 2 theta con un tamaño de etapa de 0,0144° y un tiempo de permanencia de 0,25 s (105 s por etapa). Se utilizaron rendijas de divergencia variable.

#### **Ejemplo 10: Compuesto 1-2 (base libre)**

La base libre del Compuesto 1-2 puede formarse de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 6, Etapa 4: Método alternativo 1.

#### **XRPD del Compuesto 1-2 (base libre)**

La Figura 1a muestra el difractograma de polvo de rayos X de la muestra que es característico de una sustancia farmacológica cristalina.

Picos de XRPD representativos de la base libre del Compuesto 1-2:

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	23,8	100,0
*2	14,2	43,9
3	22,5	39,3
*4	25,6	31,1
5	19,3	28,6



(continuación)

Picos XRPD	Angulo (2-Theta $\pm$ 0,2)	Intensidad %
6	27,2	27,6
7	17,0	25,4
*8	18,1	25,2
9	17,6	19,6
10	20,2	17,2
11	28,3	15,6
12	20,8	14,5
13	29,9	14,5
14	33,2	14,3
15	30,1	13,5
16	26,8	13,4
*17	22,0	12,3
18	36,5	12,3
19	31,8	12,2
20	34,6	11,5
21	31,1	11,2
22	34,0	11,0
23	30,6	10,9
*24	11,1	10,6
25	13,3	10,6

Análisis térmico de la base libre del Compuesto 1-2

- 5 Se realizó un análisis termogravimétrico de la base libre del Compuesto 1-2 para determinar el porcentaje de pérdida de peso en función del tiempo. La muestra se calentó de temperatura ambiente a 350 °C a una tasa de 10 °C/min en un TGA Q5000 de TA Instruments (Asset V014258). La Figura 2a muestra el resultado del TGA con una pérdida de peso de una etapa antes de la evaporación o descomposición térmica. De temperatura ambiente a 215 °C, el peso fue ~1,9 %.

10

Calorimetría de exploración diferencial de la base libre del Compuesto 1-2

- 15 Las propiedades térmicas de la base libre del Compuesto 1-2 se midieron usando el instrumento de AT DSC Q2000 (Asset V014259). Una muestra de la base libre del Compuesto 1-2 (1,6900 mg) se pesó en un recipiente hermético de aluminio perforado previamente y se calentó desde temperatura ambiente a 350 °C a 10 °C/min. Se observó un pico endotérmico a 210 °C con su temperatura de inicio a 201 °C (Figura 3a). La entalpía asociada con el pico endotérmico es 78 J/g.

RMN de estado sólido de la base libre del Compuesto 1-2

20

13C CPMAS en la base libre del Compuesto 1-2  
275K; 1H T1 = 1,30s  
giro de 12,5 kHz; adamantano de ref. 29,5 ppm  
Para el espectro completo, véase la Figura 4a.

25

Picos representativos

Pico N.º	Desplazamiento químico [ppm]	Intensidad [rel]
1*	171,0	28,7
2	163,7	21,4
3*	152,1	26,3
4	143,1	57,3
5*	141,2	38,8
6	138,8	30,0
7	132,4	62,1
8	130,9	52,3
9	130,0	70,7
10*	126,6	100,0
11	123,5	34,3
12	101,3	34,1
13	57,6	84,3

(continuación)

Pico N.º	Desplazamiento químico [ppm]	Intensidad [rel]
14*	38,1	42,6
15*	19,2	48,8
16	18,1	53,3

Estructura cristalina de la base libre del Compuesto 1-2

- 5 La forma libre del Compuesto 1-2 se preparó a partir de la sal de HCl del Compuesto 1-2. Se añadieron 200 mg de la sal de HCl del Compuesto 1-2 a 1 ml de una solución 6 N de NaOH. Se usaron 20 ml de diclorometano para extraer la forma libre. La capa de diclorometano se secó sobre  $K_2CO_3$ . La solución se retiró por filtración y se le añadieron 5 ml de n-heptano. Se obtuvieron cristales mediante evaporación lenta de la solución a temperatura ambiente durante una noche.
- 10 La mayoría de los cristales obtenidos fueron placas finas. Entre ellas se encontraron algunos cristales con forma prismática.
- 15 Se seleccionó un cristal prismático con unas dimensiones de  $0,2 \times 0,1 \times 0,1 \text{ mm}^3$ , se montó en un MicroMount y se centró en un difractómetro Bruker APEX II. Se obtuvieron tres lotes de 40 cuadros separados en espacio recíproco para proporcionar una matriz de orientación i parámetros de celda iniciales. Los parámetros celulares finales se obtuvieron y refinaron después de completarse la recogida de datos en función del conjunto de datos completo.
- 20 Se obtuvo un conjunto de datos de difracción de espacio recíproco a una resolución de ángulo de  $116,96^\circ 2\theta$  usando etapas de  $0,5^\circ$  con una exposición de 10 s cara cada cuadro. Los datos se recogieron a una temperatura de 100 (2) K con un criosistema de flujo de nitrógeno. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros celulares se consiguieron utilizando el software APEXII.

## DATOS CRISTALINOS

25

$C_{24}H_{25}N_5O_3S$
$M_r = 463,55$
Monoclínico, $P2_1/n$
$a = 8,9677 (1) \text{ \AA}$
$b = 10,1871 (1) \text{ \AA}$
$c = 24,5914 (3) \text{ \AA}$
$\beta = 100,213 (1)^\circ$
$V = 2210,95 (4) \text{ \AA}^3$
$Z = 4$

**Ejemplo 11: Compuesto I-2 • HCl**

- 30 El Compuesto I-2 • HCl puede formarse de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 6, Etapa 4: el Método alternativo 2 y el Ejemplo 6, Etapa 5.

XRPD del Compuesto I-2 • HCl

- 35 La Figura 1b muestra el difractograma de polvo de rayos X de la muestra que es característico de una sustancia farmacológica cristalina.

Picos de XRPD representativos del Compuesto I-2 • HCl

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta $\pm$ 0,2)	Intensidad %
1	14,4	100,0
*2	13,5	89,1
3	20,9	45,8
4	16,4	41,9
5	23,6	33,8
6	27,2	29,6

(continuación)

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta $\pm$ 0,2)	Intensidad %
*7	28,8	26,0
8	16,8	23,3
9	27,6	21,3
*10	15,0	21,1
*11	18,8	20,8
12	30,5	13,3
*13	15,4	13,0
14	26,9	12,7

Análisis térmico del Compuesto I-2 • HCl

- 5 Se realizó un análisis termogravimétrico del Compuesto I-2 • HCl para determinar el porcentaje de pérdida de peso en función del tiempo. La muestra se calentó de temperatura ambiente a 350 °C a una tasa de 10 °C/min en un TGA Q5000 de TA Instruments (Asset V014258). La Figura 2 b muestra el resultado del TGA con una pérdida de peso de dos etapas antes de la evaporación o descomposición térmica. De temperatura ambiente a 100 °C, el peso fue ~1,1 %, y de 110 °C a 240 °C la pérdida de peso es ~0,8 %.

10

Calorimetría de exploración diferencial del Compuesto I-2 • HCl

- 15 Las propiedades térmicas del Compuesto I-2 • HCl se midieron usando el instrumento de AT DSC Q2000 (Asset V014259). Una muestra del Compuesto I-2 • HCl (3,8110 mg) se pesó en un recipiente hermético de aluminio perforado previamente y se calentó desde temperatura ambiente a 350 °C a 10 °C/min. Se observó un pico endotérmico a 293 °C con su temperatura de inicio a 291 °C (Figura 3b). La entalpía asociada con el pico endotérmico es 160,3 J/g. El segundo pico endotérmico es a aproximadamente 321 °C. Ambos picos se emparejaron con la evaporación de la muestra y la descomposición.

RMN de estado sólido del Compuesto I-2 • HCl

15 CPMAS en el Compuesto I-2 • HCl  
275K; giro de 12,5 kHz; adamantano de ref. 29,5 ppm  
Para el espectro completo, véase la Figura 4b.

25

Picos representativos

Pico N.º	Desplazamiento químico [ppm]	Intensidad [rel]
1*	171,7	47,42
2	161,9	28,72
3*	153,4	28,94
4	144,8	42,57
5	142,9	54,14
6	138,7	44,06
7	136,7	60,06
8*	132,9	100
9	131,2	72,62
10	129,8	73,58
11	127,9	63,71
12	125,4	79,5
13	124,1	34,91
14	100,7	53,52
15	54,5	62,56
16	53,9	61,47
17*	31,8	61,15
18	17,0	74,78
19*	15,7	77,79

Estructura cristalina del Compuesto I-2 • HCl

30

Se añadieron 180 mg del Compuesto I-2 • HCl a un vial con 0,8 ml de 2-propanol y 0,2 ml de agua. El vial cerrado herméticamente se mantuvo en un horno a 70 °C durante dos semanas. Se observaron los cristales de calidad de difracción.

Se seleccionó un cristal con forma de aguja de color amarillo con unas dimensiones de 0,15 x 0,02 x 0,02 mm<sup>3</sup>, se montó en un MicroMount y se centró en un difractorómetro Bruker APEX II (V011510). Se obtuvieron tres lotes de 40 cuadros separados en espacio recíproco para proporcionar una matriz de orientación i parámetros de celda iniciales. Los parámetros celulares finales se recogieron y se completó el refinamiento en función del conjunto de datos completo.

Se obtuvo un conjunto de datos de difracción de espacio recíproco a una resolución de ángulo de 106° 2θ usando etapas de 0,5° con tiempos de exposición de 20 s para cada cuadro para cuadros de ángulo bajo y 60 s para cada cuadro para cuadros de ángulo alto. Los datos se recogieron a temperatura ambiente.

Para obtener los datos de la tabla 1, se sopló nitrógeno seco en el cristal a una velocidad de 6 litros/min para mantener fuera la humedad ambiental. Los datos en la tabla 2 se obtuvieron sin nitrógeno. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros celulares se realizaron utilizando el software APEXII. La ocupación de agua puede variar entre 0 y 1.

Tabla 1	Tabla 2
C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>4</sub> S
M <sub>r</sub> = 500,01	M <sub>r</sub> = 518,02
Monoclínico, P2 <sub>1</sub> /n	Monoclínico, P2 <sub>1</sub> /n
a = 5,3332 (2) Å	a = 5,4324 (5) Å
b = 35,4901 (14) Å	b = 35,483 (4) Å
c = 13,5057 (5) Å	c = 13,3478 (12) Å
β = 100,818 (2)°	β = 100,812 (5)°
V = 2510,87 (17) Å <sup>3</sup>	V = 2527,2 (4) Å <sup>3</sup>

#### Análisis elemental de CHN

El análisis elemental de CHN del Compuesto I-2 • HCl sugiere una sal mono HCl.

Elemento	C	H	N	Cl
% Teórico para C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S.HCl	57,60	5,20	14,00	7,10
% Encontrado	56,52	5,38	13,69	7,18

#### Ejemplo 12: Compuesto I-2 • 2HCl

El Compuesto I-2 • 2HCl puede formarse de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 6, Etapa 4.

#### XRPD del Compuesto I-2 • 2HCl

Los patrones de XRPD se adquirieron a temperatura ambiente en modo de reflexión utilizando un sistema Bruker D8 Discover (Asset Tag V012842) equipado con una fuente de tubo cerrado herméticamente y un detector de área Hi-Star (Bruker AXS, Madison, WI). El generador de rayos X se hace funcionar a un voltaje de 40 kV y una corriente de 35 mA. La muestra de polvo se coloca en un soporte de níquel. Se registran dos cuadros con un tiempo de exposición de 120 s cada uno. A continuación los datos se integran a lo largo del intervalo de 4,5°-39° 2θ con un tamaño de etapa de 0,02° y se fusionan en un patrón continuo.

La Figura 1c muestra el difractograma de polvo de rayos X de la muestra que es característico de una sustancia farmacológica cristalina.

Picos de XRPD representativos del Compuesto I-2 • 2HCl

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	16,8	100,0
*2	15,1	92,2
3	26,2	91,3
4	27,5	91,3
5	27,2	91,2
6	11,8	89,0
7	29,8	89,0
8	22,8	88,8
9	15,7	88,1
*10	18,5	87,5
11	8,4	87,4

(continuación)

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta $\pm$ 0,2)	Intensidad %
12	12,8	86,6
*13	11,5	86,0
14	14,6	86,0
15	20,1	86,0
*16	13,1	85,9
17	16,0	85,9
18	17,3	85,7
19	23,9	85,7
20	19,2	85,4
*21	5,7	85,2
22	21,3	85,2
23	25,3	84,9
24	28,7	84,7
25	24,3	84,1

Análisis térmico del Compuesto I-2 • 2HCl

- 5 Un análisis termogravimétrico del Compuesto I-2 • 2HCl se realizó en el instrumento de AT TGA modelo Q5000. El Compuesto I-2 • 2HCl se puso en una un recipiente para muestras de platino y se calentó a 10 °C/min a 350 °C desde temperatura ambiente. La Figura 2c muestra el resultado del TGA, que demuestra una pérdida de peso del 7,0 % de temperatura ambiente a 188 °C, que es consistente con la pérdida de 1 equivalente de HCl (6,8 %). La temperatura de aparición de degradación/fusión es 263 °C.

10

Calorimetría de exploración diferencial del Compuesto I-2 • 2HCl

- 15 Se obtuvo un termograma para el lote 3 de la sustancia farmacológica del Compuesto I-2 • 2HCl usando DSC Q2000 de TA Instruments. El Compuesto I-2 • 2HCl se calentó a 2 °C/min a 275 °C desde -20 °C, y se moduló a  $\pm$  1 °C cada 60 sec. El termograma DSC (Figura 3c) revela un pico endotérmico por debajo de 200 °C, que podría corresponder a la pérdida de 1 equivalente de HCl. La fusión/recristalización sucede entre 215-245 °C, seguido de degradación.

RMN de estado sólido del Compuesto I-2 • 2HCl

- 20 <sup>13</sup>C CPMAS en el Compuesto I-2 • 2HCl  
275K; 1H T1 = 1,7s  
giro de 12,5 kHz; adamantano de ref. 29,5 ppm  
Para el espectro completo, véase la Figura 4c.

Pico N.º	Desplazamiento químico [ppm]	Intensidad [rel]
1*	166,5	32,6
2	160,7	24,7
3	145,3	15,0
4*	137,6	56,0
5*	136,1	100,0
6	134,2	22,7
7	132,4	55,9
8	130,0	54,9
9	127,7	70,7
10	125,9	97,1
11	124,7	59,0
12	123,8	91,4
13	123,2	56,0
14	101,6	37,7
15	56,1	60,3
16	50,7	45,6
17*	34,2	56,8
18	18,4	63,5
19*	16,4	70,32

25

Estructura cristalina del Compuesto I-2 • 2HCl

Se añadieron 180 mg del Compuesto I-2 • HCl a un vial con 0,8 ml de 2-propanol y 0,2 ml de agua. El vial cerrado

herméticamente se mantuvo en un horno a 70 °C durante dos semanas. Se observaron los cristales de calidad de difracción.

5 Se seleccionó un cristal con forma de aguja de color amarillo con unas dimensiones de 0,15 x 0,02 x 0,02 mm<sup>3</sup>, se montó en un MicroMount y se centró en un difractorómetro Bruker APEX II (V011510). Se obtuvieron tres lotes de 40 cuadros separados en espacio recíproco para proporcionar una matriz de orientación i parámetros de celda iniciales. Los parámetros celulares finales se recogieron y se completó el refinamiento en función del conjunto de datos completo.

10 Se obtuvo un conjunto de datos de difracción de espacio recíproco a una resolución de ángulo de 106° 2θ usando etapas de 0,5° con tiempos de exposición de 20 s para cada cuadro para cuadros de ángulo bajo y 60 s para cada cuadro para cuadros de ángulo alto. Los datos se recogieron a temperatura ambiente. Se sopló nitrógeno seco en el cristal a una velocidad de 6 litros/min para mantener fuera la humedad ambiental. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros celulares se realizaron utilizando el software APEXII.

15

#### DATOS CRISTALINOS

$C_{24}H_{26}ClN_5O_3S$
$M_r = 500,01$
Monoclínico, $P2_1/n$
$a = 5,3332 (2) \text{ \AA}$
$b = 35,4901 (14) \text{ \AA}$
$c = 13,5057 (5) \text{ \AA}$
$\beta = 100,818 (2)^\circ$
$V = 2510,87 (17) \text{ \AA}^3$

#### **Ejemplo 13: Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O**

20

El Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O puede formarse a partir del Compuesto I-2 • 2 HCl. (E29244-17) Una suspensión del Compuesto I-2 • 2 HCl (10,0 g, 18,6 mmol) en alcohol isopropílico (40 ml) y agua (10 ml) se calentó 50 °C durante aproximadamente 1 h y después se enfrió por debajo de 10 °C. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con 80/20 de alcohol isopropílico/agua (2 x 10 ml) y se secó al aire para proporcionar el Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O en forma de un polvo de color amarillo.

25

#### XRPD del Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O

30 Los patrones de XRPD se adquirieron a temperatura ambiente en modo de reflexión utilizando un sistema Bruker D8 Discover (Asset Tag V012842) equipado con una fuente de tubo cerrado herméticamente y un detector de área Hi-Star (Bruker AXS, Madison, WI). El generador de rayos X se hace funcionar a un voltaje de 40 kV y una corriente de 35 mA. La muestra de polvo se coloca en un soporte de níquel. Se registran dos cuadros con un tiempo de exposición de 120 s cada uno. A continuación los datos se integran a lo largo del intervalo de 4,5°-39° 2 con un tamaño de etapa de 0,02° y se fusionan en un patrón continuo.

35

La Figura 1d muestra el difractograma de polvo de rayos X de la muestra que es característico de una sustancia farmacológica cristalina.

Picos de XRPD representativos del Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O

40

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
*1	6,6	100,0
*2	19,5	46,5
3	16,8	37,8
4	22,9	36,0
5	13,9	27,0
6	7,3	23,4
7	13,0	22,7
8	16,5	21,2
*9	24,7	20,9
10	17,7	20,8
11	31,1	19,6
12	15,8	19,3
*13	8,1	18,5
14	17,1	18,4
15	12,7	17,2

(continuación)

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
16	16,0	17,2
17	14,5	16,5
18	20,6	16,0
19	32,7	15,5
*20	11,2	15,2
21	33,9	11,3

Análisis térmico del Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O

- 5 El análisis termogravimétrico (TGA) para el Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O se realizó en TGA modelo Q5000 de TA Instruments. El Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O se puso en un recipiente para muestras de platino y se calentó a 10 °C/min a 400 °C desde temperatura ambiente. El termograma (Figura 2d) demuestra una pérdida de peso del 2,9 % de temperatura ambiente a 100 °C, y una pérdida de peso del 0,6 % de 100 °C a 222 °C, que es consistente con el monohidrato teórico (3,5 %).

10

Calorimetría de exploración diferencial del Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O

- 15 Se obtuvo un termograma DSC para el Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O usando DSC Q2000 de TA Instruments. El Compuesto I-2 • HCl • H<sub>2</sub>O se calentó a 2 °C/min a 275 °C desde -20 °C, y se moduló a ± 1 °C cada 60 seg. El termograma DSC (Figura 3d) revela un pico endotérmico por debajo de 200 °C, que podría corresponder a la pérdida de 1 equivalente de HCl. La fusión/recristalización sucede entre 215-245 °C, seguido de degradación.

Ejemplo 14: Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

- 20 El Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O puede formarse a partir del Compuesto I-2 • 2 HCl. (E29244-17) Una suspensión del Compuesto I-2 • 2 HCl (10,0 g, 18,6 mmol) en alcohol isopropílico (40 ml) y agua (10 ml) se calentó 50 °C durante aproximadamente 1 h y después se enfrió por debajo de 10 °C. El sólido se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con 80/20 de alcohol isopropílico/agua (2 x 10 ml) y se secó al aire para proporcionar el Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O en forma de un polvo de color amarillo.

25

XRPD del Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

- 30 Las mediciones de difracción de rayos X de polvo se realizaron utilizando un difractómetro X-pert Pro de PANalytical a temperatura ambiente con radiación de cobre (1,54060 Å). La óptica del haz incidente estaba compuesta de una ranura de divergencia variable para asegurar una longitud iluminada constante sobre la muestra y sobre el lado del haz difractado, se utilizó un detector rápido lineal de estado sólido con una longitud activa de 2,12 grados 2 theta medida en un modo de exploración. La muestra de polvo se empaquetó en el área indentada de un soporte de silicio de fondo cero y se realizó un giro para conseguir mejores estadísticas. Se midió una exploración simétrica de 4 - 40

35

La Figura 1d muestra el difractograma de polvo de rayos X de la muestra que es característico de una sustancia farmacológica cristalina.

40

Picos de XRPD representativos del Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	16,2	100,0
2	13,4	82,0
*3	26,6	69,2
4	15,9	66,3
5	15,5	63,8
6	17,1	55,3
7	28,3	55,3
8	7,2	51,8
9	20,7	49,7
10	15,3	46,2
11	20,2	44,6
12	28,0	41,2
13	19,9	40,4
14	17,6	39,1
15	26,3	39,0
*16	7,6	36,1

(continuación)

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta $\pm$ 0,2)	Intensidad %
17	27,3	33,6
18	25,6	33,5
19	18,8	32,2
20	27,0	29,1
21	20,8	28,7
22	22,5	28,0
23	13,0	23,8
*24	6,3	22,6
25	25,2	22,6
26	14,3	22,4
27	19,1	20,8
28	25,1	19,7
29	13,7	19,0
30	14,0	17,4
31	33,0	16,2
*32	23,3	15,7
33	16,6	15,1
34	29,6	14,9
35	29,9	14,8
36	27,6	14,8
37	32,1	13,3
*38	24,6	13,1
39	30,8	11,1

Análisis térmico del Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

5 Los gráficos térmicos de TGA (análisis termogravimétrico) usando un instrumento de TA TGA Q500 respectivamente a una velocidad de exploración de 10 °C/min a lo largo de un intervalo de temperaturas de 25-300 °C. Para el análisis TGA, las muestras se pusieron en un recipiente abierto. El termograma demuestra una pérdida de peso de ~6 de temperatura ambiente a 100 °C, que es consistente con el dihidrato teórico (6,7 %).

10 Calorimetría de exploración diferencial del Compuesto I-2 • HCl • 2H<sub>2</sub>O

Se obtuvieron gráficos térmicos de DSC (calorimetría de exploración diferencial) usando a DSC Q2000 de TA instruments a una velocidad de exploración de 10 °C/min a lo largo de un intervalo de temperaturas de 25-300 °C. Para el análisis DSC, las muestras se pesaron en recipientes herméticos de aluminio T-zero que se cerraron herméticamente y se perforaron con un solo orificio. El termograma DSC revela deshidratación entre temperatura ambiente y 120 °C, seguido de fusión/recristalización entre 170-250 °C.

Estructura cristalina del Compuesto I-2 • HCl con agua

20 Se añadieron 180 mg del Compuesto I-2 • HCl a un vial con 0,8 ml de 2-propanol y 0,2 ml de agua. El vial cerrado herméticamente se mantuvo en un horno a 70 °C durante dos semanas. Se observaron los cristales de calidad de difracción.

25 Se seleccionó un cristal con forma de aguja de color amarillo con unas dimensiones de 0,15 x 0,02 x 0,02 mm<sup>3</sup>, se montó en un MicroMount y se centró en un difractómetro Bruker APEX II (V011510). Después, un tubo de Kapton con agua en su interior cubrió el pasador. El tubo se cerró herméticamente para asegurar que el cristal se equilibra con el agua durante dos días antes de los experimentos de difracción. Se obtuvieron tres lotes de 40 cuadros separados en espacio recíproco para proporcionar una matriz de orientación i parámetros de celda iniciales. Los parámetros celulares finales se recogieron y se completó el refinamiento en función del conjunto de datos completo.

30 Se obtuvo un conjunto de datos de difracción de espacio recíproco a una resolución de ángulo de 106° 2θ usando etapas de 0,5° con tiempos de exposición de 20 s para cada cuadro para cuadros de ángulo bajo y 60 s para cada cuadro para cuadros de ángulo alto. Los datos se recogieron a temperatura ambiente. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros celulares se realizaron utilizando el software APEXII.

35

## DATOS CRISTALINOS

C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>4</sub> S
M <sub>r</sub> = 518,02
Monoclínico, P2 <sub>1</sub> /n



$a = 5,4324 (5) \text{ \AA}$
$b = 35,483 (4) \text{ \AA}$
$c = 13,3478 (12) \text{ \AA}$
$\beta = 100,812 (5)^\circ$
$V = 2527,2 (4) \text{ \AA}^3$

#### **Ejemplo 15: Ensayo celular de inhibición de ATR:**

5 Los compuestos se pueden explorar por su capacidad de inhibir la ATR intracelular utilizando un ensayo de microscopía de inmunofluorescencia para detectar la fosforilación del sustrato de la ATR histona H2AX, en células tratadas con hidroxurea. Se siembran en placas células HT29 a 14.000 células por pocillo, en placas negras de 96 pocillos para obtención de imágenes (BD 353219) en medio 5A de McCoy (Sigma M8403) complementado con suero fetal bovino al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejan adherir durante la noche a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. A continuación, se añaden los compuestos al medio celular desde una concentración final de 25 μM en diluciones seriadas de factor 3, y las células se incuban a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Después de 15 min, se añade hidroxurea (Sigma H8627) a una concentración final de 2 mM.

15 Después 45 min de tratamiento con hidroxurea, las células se lavan en PBS, se fijan durante 10 min en formaldehído al 4 % diluido en PBS (Polysciences Inc 18814), se lavan en Tween-20 al 0,2 % en PBS (tampón de lavado) y se permeabilizan durante 10 min en Triton X-100 al 0,5 % en PBS, todo a temperatura ambiente. Después, las células se lavan una vez en tampón de lavado y se bloquean durante 30 min a temperatura ambiente en suero de cabra al 10 % (Sigma G9023) diluido en tampón de lavado (tampón de bloqueo). Para detectar los niveles de fosforilación de H2AX, a continuación las células se incuban durante 1 h a temperatura ambiente con un anticuerpo primario (anticuerpo monoclonal de ratón anti histona H2AX Ser139 fosforilada; Upstate 05-636) diluido 1:250 en tampón de bloqueo. Después, las células se lavan cinco veces en tampón de lavado antes de la incubación durante 1 h a temperatura ambiente en oscuridad en una mezcla de anticuerpo secundario (anticuerpo de cabra anti ratón conjugado con Alexa Fluor 488; Invitrogen A11029) y tinción Hoechst (Invitrogen H3570); diluidos 1:500 y 1:5000, respectivamente, en tampón de lavado. A continuación, se lavan las células cinco veces en tampón de lavado y, para finalizar, se añaden a cada pocillo 100 ul de PBS antes de la obtención de imágenes.

Se obtienen imágenes de las células para la intensidad de Alexa Fluor 488 y Hoechst, utilizando el BD Pathway 855 Bioimager y el programa informático Attovision (BD Biosciences, Versión 1.6/855), para cuantificar a H2AX Ser139 fosforilada y la tinción de ADN, respectivamente. A continuación, se calcula para cada pocillo el porcentaje de núcleos positivos para H2AX fosforilada en un montaje de 9 imágenes a un aumento de 20x, utilizando el programa informático BD Image Data Explorer (BD Biosciences Versión 2.2.15). Los núcleos positivos para H2AX fosforilada se definen como regiones de interés positivas para Hoechst que contienen una intensidad de Alexa Fluor 488 a 1,75 veces la intensidad promedio de Alexa Fluor 488 en células no tratadas con hidroxurea. El porcentaje de núcleos positivos para H2AX se representa finalmente frente a la concentración de cada compuesto y se determinan las CI50 para la inhibición de ATR intracelular utilizando el programa informático Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, programa informático GraphPad, San Diego, California, EE. UU.).

Los compuestos descritos en el presente documento también se pueden analizar de acuerdo con otros métodos conocidos en la materia (véase Sarkaria *et al*, "Inhibition of ATM and ATR Kinase Activities by the Radiosensitizing Agent, Caffeine: Cancer Research 59: 4375-5382 (1999); Hickson *et al*, "Identification and Characterization of a Novel and Specific Inhibitor of the Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase ATM" Cancer Research 64: 9152-9159 (2004); Kim *et al*, "Substrate Specificities and Identification of Putative Substrates of ATM Kinase Family Members" The Journal of Biological Chemistry, 274(53): 37538-37543 (1999); y Chiang *et al*, "Determination of the catalytic activities of mTOR and other members of the phosphoinositide-3-kinase-related kinase family" Methods Mol. Biol. 281:125-41 (2004)).

#### **Ejemplo 16: Ensayo de inhibición de ATR:**

50 Los compuestos pueden explorarse por su capacidad de inhibir la quinasa ATR utilizando un ensayo de incorporación de fosfato radioactivo. Los ensayos se llevan a cabo en una mezcla de Tris/HCl 50 mM (pH 7,5), MgCl<sub>2</sub> 10 mM y DTT 1 mM. Las concentraciones finales de sustrato son [ $\gamma$ -33P]ATP 10 μM (3mCi de 33P ATP/mmol de ATP, Perkin Elmer) y péptido diana 800 μM (ASELPASQPQPFSAKKK).

55 Los ensayos se llevan a cabo a 25 °C en presencia de ATR de longitud completa 5 nM. Se prepara una solución madre de tampón de ensayo que contiene todos los reactivos enumerados anteriormente, con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se colocan 13,5 μl de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido por la adición de 2 μl de diluciones seriadas del compuesto de ensayo, que contienen solución madre de DMSO (comenzando normalmente desde una concentración final de 15 μM con diluciones seriadas de factor 3), por duplicado (concentración final de DMSO del 7 %). La placa se preincuba durante 10 minutos a 25 °C y se inicia la

reacción mediante la adición de 15 µl de [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P]ATP (concentración final 10 µM).

La reacción se detiene después de 24 horas mediante la adición de 30 µl de ácido fosfórico 0,1 M que contiene ATP 2 mM. Una placa de 96 pocillos con filtro de fosfo celulosa para exploración múltiple (Millipore, n.º de cat. MAPHN0B50) se pretrata con 100 µl de ácido fosfórico 0,2 M antes de la adición de 45 µl de la mezcla de detención de ensayo. Se lava la placa con 5 x 200 µl de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añaden al pocillo 100 µl de cóctel de centelleo líquido Optiphase 'SuperMix' (Perkin Elmer) antes del contaje por centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

- 10 Después de eliminar los valores de fondo promedio de todos los puntos de datos, se calculan los datos de la  $K_i$ (ap) a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de la constante inicial utilizando el paquete de programas informáticos dPrism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, programa informático GraphPad, San Diego, California, EE. UU.).
- 15 En general, los compuestos de la presente invención son eficaces para inhibir la ATR. Los compuestos I-1, I-2, II-1, II-2, II-3 y II-4 inhiben la ATR a valores de  $K_i$  inferiores a 0,001 µM.

**Ejemplo 17: Ensayo de sensibilización a cisplatino**

20 Los compuestos se pueden explorar por su capacidad de sensibilizar células HCT116 de cáncer colorrectal a cisplatino utilizando un ensayo de viabilidad celular (MTS) de 96 h. Las células HCT116, que poseen un defecto en la señalización de ATM para el cisplatino (véase, Kim *et al.*; Oncogene 21:3864 (2002); véase también, Takemura *et al.*; JBC 281:30814 (2006)) se siembran en placas a 470 células por pocillo en placas de poliestireno de 96 pocillos (Costar 3596), en 150 µl de medio 5A de McCoy (Sigma M8403) complementado con suero fetal bovino al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejan adherir durante la noche a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. A continuación, se añaden simultáneamente los compuestos y el cisplatino al medio celular, en diluciones seriadas con factor 2 desde una concentración final superior de 10 µM como una matriz completa de concentraciones en un volumen de células final de 200 µl, y las células se incuban a continuación a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Después de 96 h, se añaden a cada pocillo 40 µl de reactivo MTS (Promega G358a) y se incuban las células durante 1 h a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Por último, se mide la absorbancia a 490 nm utilizando un lector SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices) y se informa la concentración de compuesto necesaria para reducir la CI<sub>50</sub> del cisplatino solo en al menos 3 veces (hasta 1 decimal).

**Ejemplo 18: Actividad de agentes únicos para HCT116**

Los compuestos se pueden explorar por su actividad como agentes únicos frente a células HCT116 de cáncer colorrectal, utilizando un ensayo de viabilidad celular (MTS) de 96 h. Se siembran en placas las HCT116, a 470 células por pocillo en placas de poliestireno de 96 pocillos (Costar 3596), en 150 µl de medio 5A de McCoy (Sigma M8403) complementado con suero fetal bovino al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejan adherir durante la noche a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. A continuación, se añaden los compuestos al medio celular, en diluciones seriadas con factor 2 desde una concentración final superior de 10 µM como una matriz completa de concentraciones en un volumen de células final de 200 µl, y las células se incuban a continuación a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Después de 96 h, se añaden a cada pocillo 40 µl de reactivo MTS (Promega G358a) y se incuban las células durante 1 h a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Por último, se mide la absorbancia a 490 nm utilizando un lector SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices) y se pueden calcular los valores de CI<sub>50</sub>.

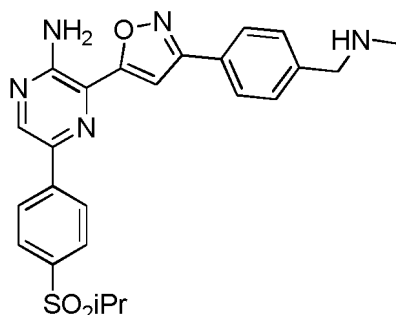
**Datos para los ejemplos 18-21**

50

Comp. N.º	CI <sub>50</sub> del agente único para HT116 (nM)	K <sub>i</sub> de la inhibición de ATR (nM)	CI <sub>50</sub> de ATR celular (nM)	Sensibilización a cisplatino (nM)
II-1	62	<1	18	39
II-2	46	<1		29
II-3	66	0,148	10	39
II-4		0,2		

## REIVINDICACIONES

1. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula I-2:

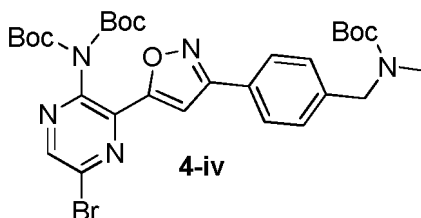


5

I-2

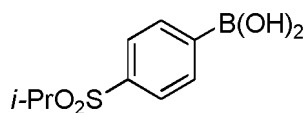
o una sal del mismo,

que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula 4-iv:



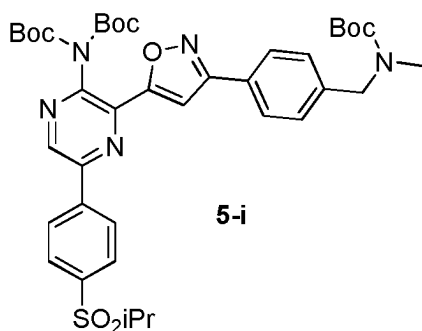
10

con un compuesto de la siguiente estructura:



15

en condiciones de acoplamiento adecuadas para formar un compuesto de fórmula 5-i:



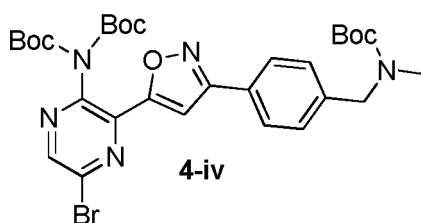
, y

20 desproteger el compuesto de fórmula 5-i en condiciones de desprotección de Boc adecuadas, en el que las condiciones de acoplamiento cruzado adecuadas comprenden combinar un catalizador de paladio adecuado con una base adecuada en un disolvente adecuado, y en el que el catalizador de paladio adecuado se selecciona entre Pd[P(tBu)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, Pd(dtbbpf)Cl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(PCy<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> y Pd(dppe)Cl<sub>2</sub>; el disolvente adecuado se selecciona entre uno o más de los siguientes: tolueno, MeCN, agua, EtOH, IPA, 2-Me-THF o IPAc; y la base adecuada se selecciona entre K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

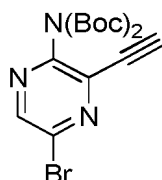
25

2. El proceso de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una etapa de preparar el compuesto de fórmula 4-iv:

30

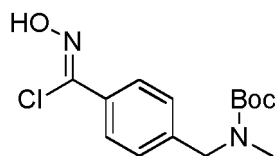


haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **4-iii**:



5

con un compuesto de fórmula **4-ii**:



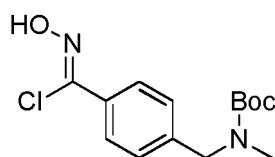
10

en condiciones de cicloadición adecuadas.

3. El proceso de la reivindicación 2, en el que las condiciones de cicloadición adecuadas comprenden una base adecuada seleccionada entre piridina, DIEA, TEA, t-BuONa o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y un disolvente adecuado seleccionado entre acetonitrilo, tetrahydrofurano, 2-metiltetrahydrofurano, MTBE, EtOAc, i-PrOAc, DCM, tolueno, DMF y metanol.

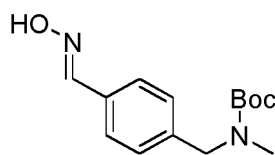
15

4. El proceso de la reivindicación 2, que comprende además una etapa de preparar el compuesto de fórmula **4-ii**:



20

haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **4-i**:



25

en condiciones de formación de clorooxima adecuadas.

5. El proceso de la reivindicación 4, en el que las condiciones de formación de clorooxima adecuadas comprenden añadir HCl en dioxano a una solución de un compuesto de fórmula **4-i** en presencia de NCS, en un disolvente adecuado seleccionado entre disolventes no próticos, hidrocarburos aromáticos y acetatos de alquilo.

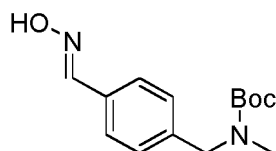
30

6. El proceso de la reivindicación 5, en el que el disolvente es un disolvente no prático seleccionado entre DCM, DCE, THF y dioxano.

5 7. El proceso de la reivindicación 5, en el que el disolvente es un hidrocarburo aromático seleccionado entre tolueno y xilenos.

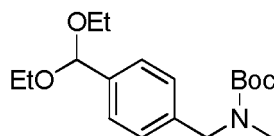
8. El proceso de la reivindicación 5, en el que el disolvente es un acetato de alquilo seleccionado entre acetato de isopropilo y acetato de etilo.

10 9. El proceso de la reivindicación 4, que comprende además una etapa de preparar el compuesto de fórmula **4-i**:



**4-i**

15 haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **3b**:



**3b**

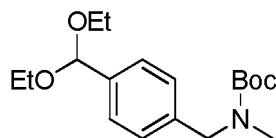
en condiciones de formación de oxima adecuadas.

20 10. El proceso de la reivindicación 9, en el que las condiciones de formación de oxima adecuadas consisten en una secuencia de una sola etapa o una secuencia de dos etapas.

25 11. El proceso de la reivindicación 10, en el que las condiciones de formación de oxima adecuadas comprenden una secuencia de una sola etapa que comprende tratar el compuesto de fórmula **3b** con  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  en una mezcla de THF y agua.

12. El proceso de la reivindicación 11, en el que 1 equivalente del compuesto de fórmula **3b** se combina con 1,1 equivalentes de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  en una mezcla 10:1 v/v de THF/agua.

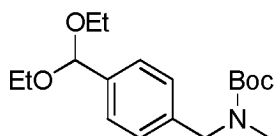
30 13. El proceso de la reivindicación 10, en el que las condiciones de formación de oxima adecuadas comprenden una secuencia de dos etapas, en el que la secuencia de dos etapas comprende una primera etapa de desproteger el grupo cetal en el compuesto de fórmula **3b**:



**3b**

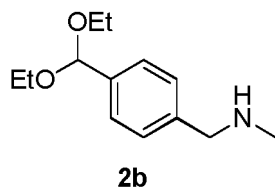
35 en condiciones de desprotección adecuadas para proporcionar el aldehído correspondiente, y una segunda etapa de someter el aldehído correspondiente a condiciones de formación de oxima adecuadas.

40 14. El proceso de la reivindicación 9, que comprende además una etapa de preparar el compuesto de fórmula **3b**:



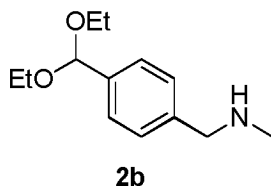
**3b**

haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **2b**:



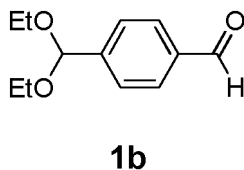
5 en condiciones de protección con Boc adecuadas.

15. El proceso de la reivindicación 14, que comprende además una etapa de preparar el compuesto de fórmula **2b**:



10

haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **1b**:



15

con metilamina en condiciones de aminación reductora adecuadas.

16. El proceso de la reivindicación 15, en el que las condiciones de aminación reductora adecuadas comprenden añadir un agente reductor seleccionado entre  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  y  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  en presencia de un disolvente seleccionado entre diclorometano (DCM), dicloroetano (DCE), metanol, etanol, 1-propanol e isopropanol, dioxano, tetrahidrofurano y 2-metiltetrahidrofurano.

20

17. El proceso de la reivindicación 16, en el que las condiciones de aminación reductora adecuadas comprenden además una base seleccionada entre trietilamina y diisopropiltilamina.

25

18. El proceso de la reivindicación 17, en el que las condiciones de aminación reductora adecuadas comprenden añadir 1,2 equivalentes de cápsulas de  $\text{NaBH}_4$  en presencia de trimetilamina en metanol.

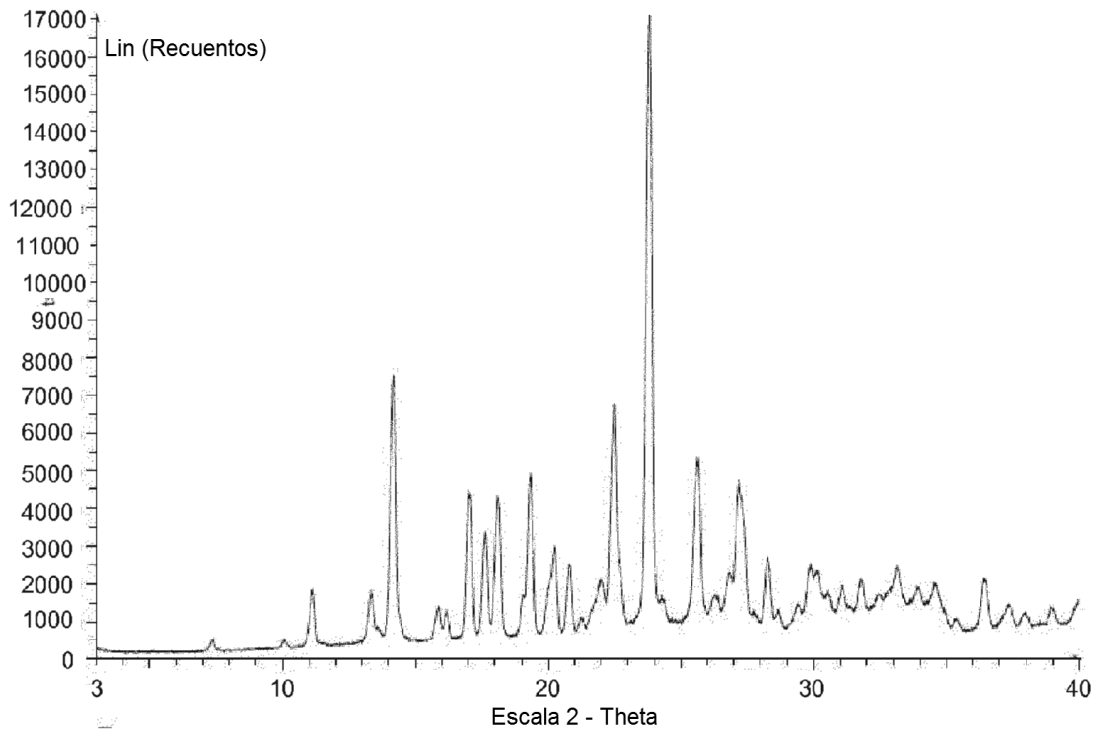
19. El proceso de la reivindicación 1, en el que las condiciones de desprotección de Boc adecuadas comprenden añadir un agente de desprotección de Boc adecuado seleccionado entre TMS-Cl, HCl, TBAF,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  o TFA y el disolvente adecuado se selecciona entre acetona, tolueno, metanol, etanol, 1-propanol, isopropanol,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOAc, acetato de isopropilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, dioxano o éter dietílico.

30

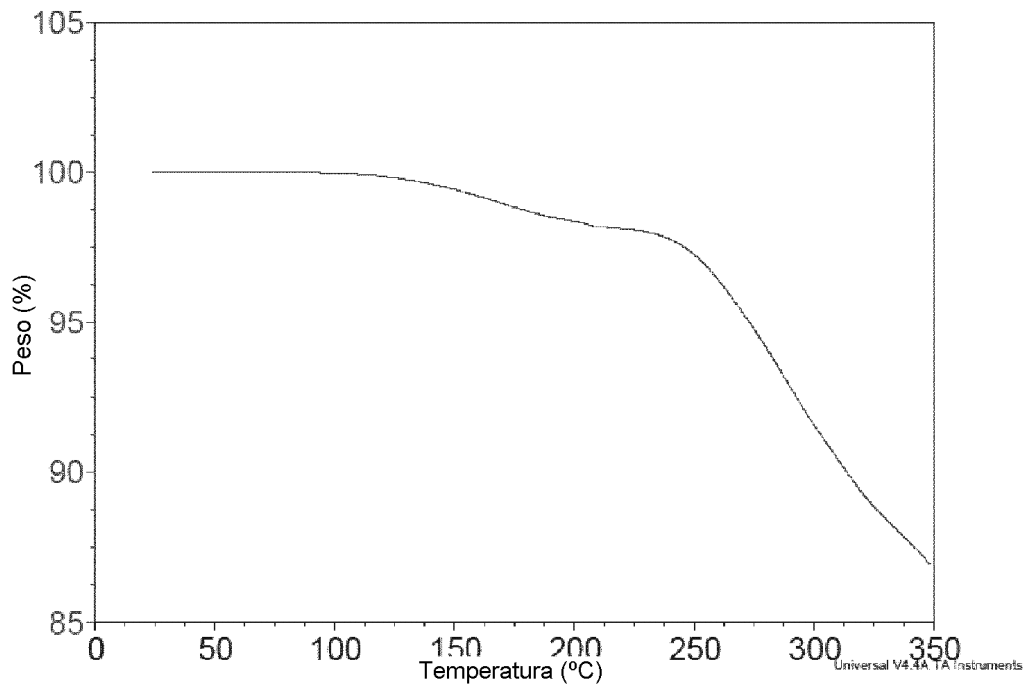
20. El proceso de la reivindicación 19, en el que el agente de desprotección de Boc adecuado es HCl o TFA y el disolvente adecuado es acetona o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

35

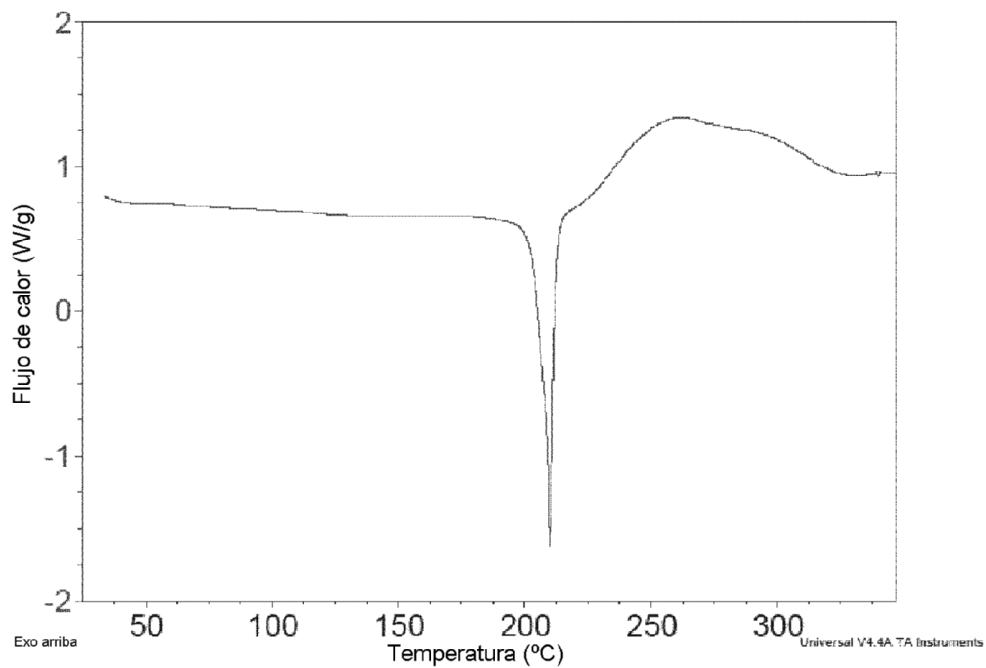
**FIGURA 1a: XRPD base libre del Compuesto I-2**



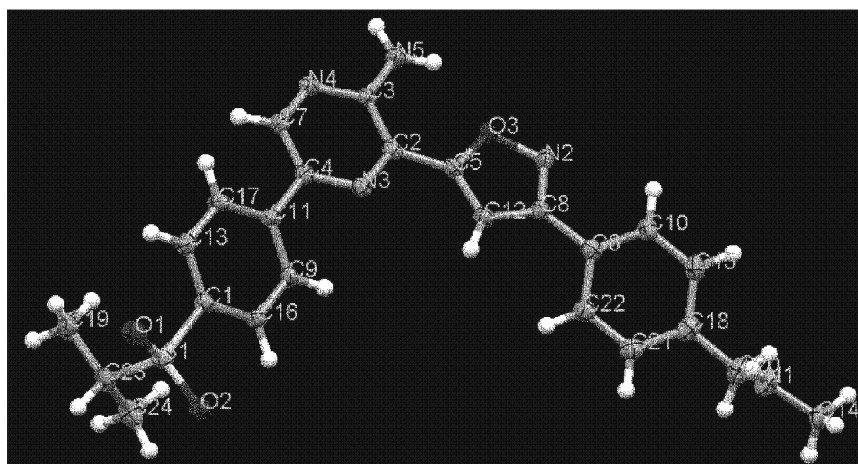
**FIGURA 2a: TGA base libre del Compuesto I-2**



**FIGURA 3a: DSC base libre del Compuesto I-2**

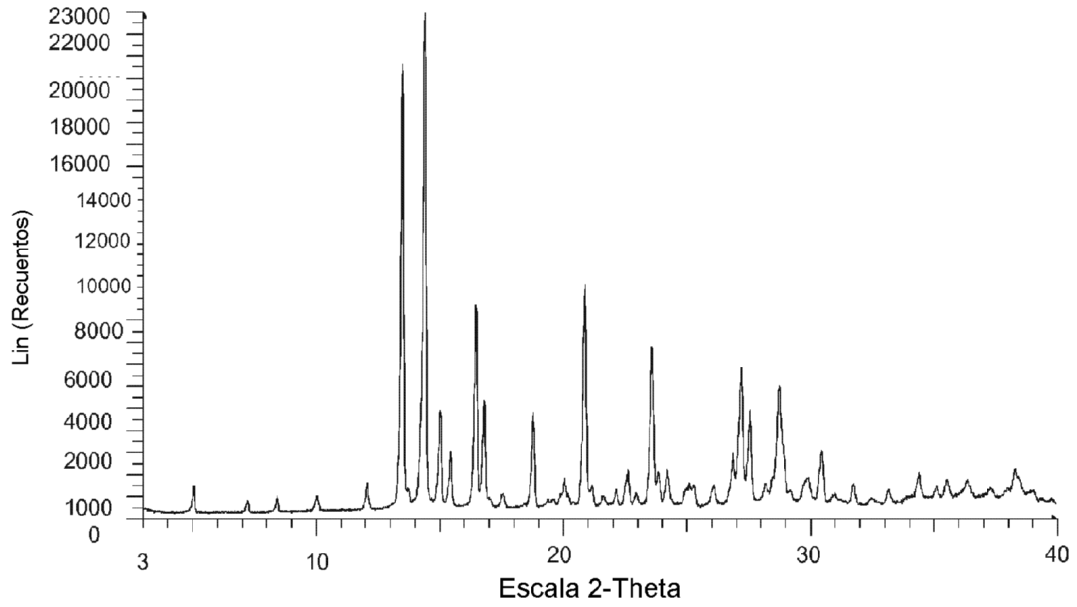


**FIGURA 4a: representación ORTEP de la unidad asimétrica de la estructura de un solo cristal de la forma libre del Compuesto I-2**

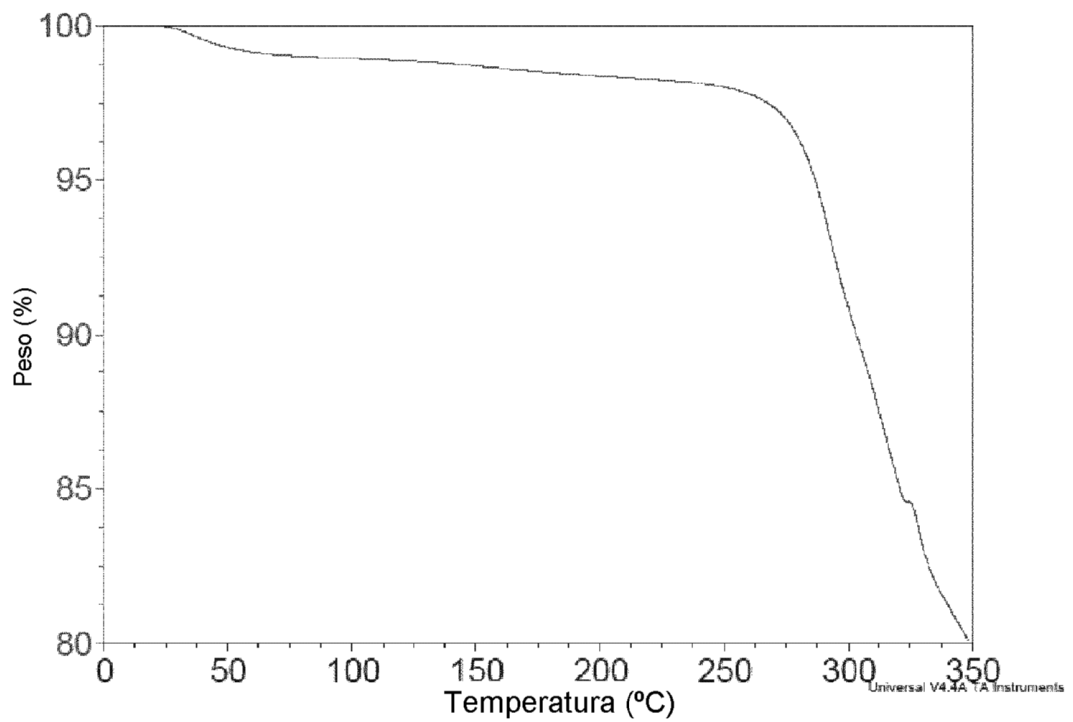




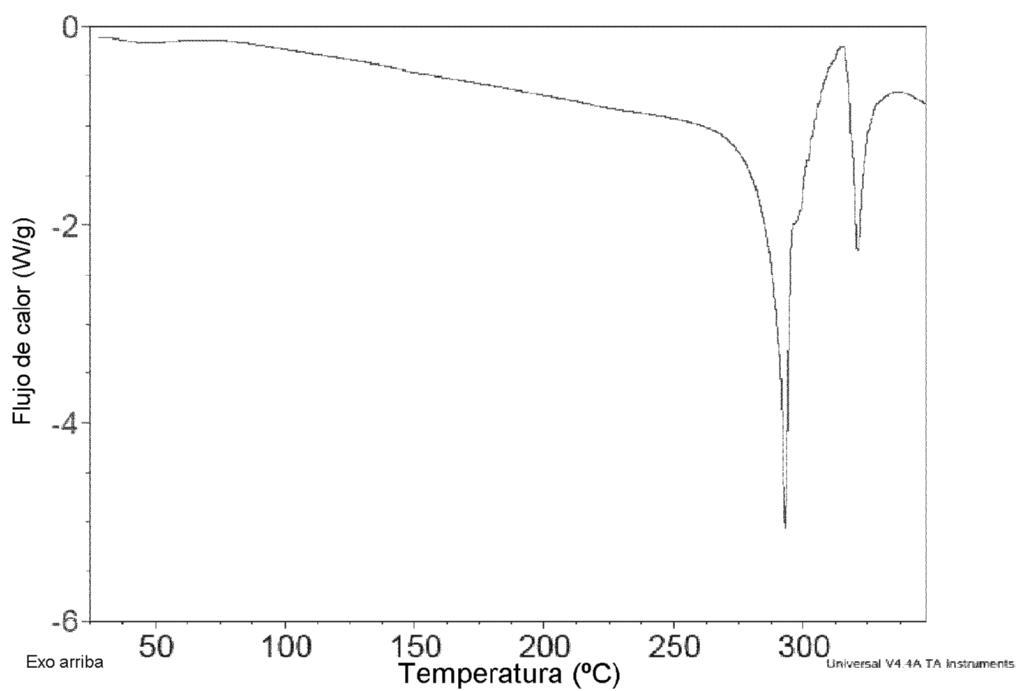
**FIGURA 1b: XRPD Compuesto I-2 · HCl**



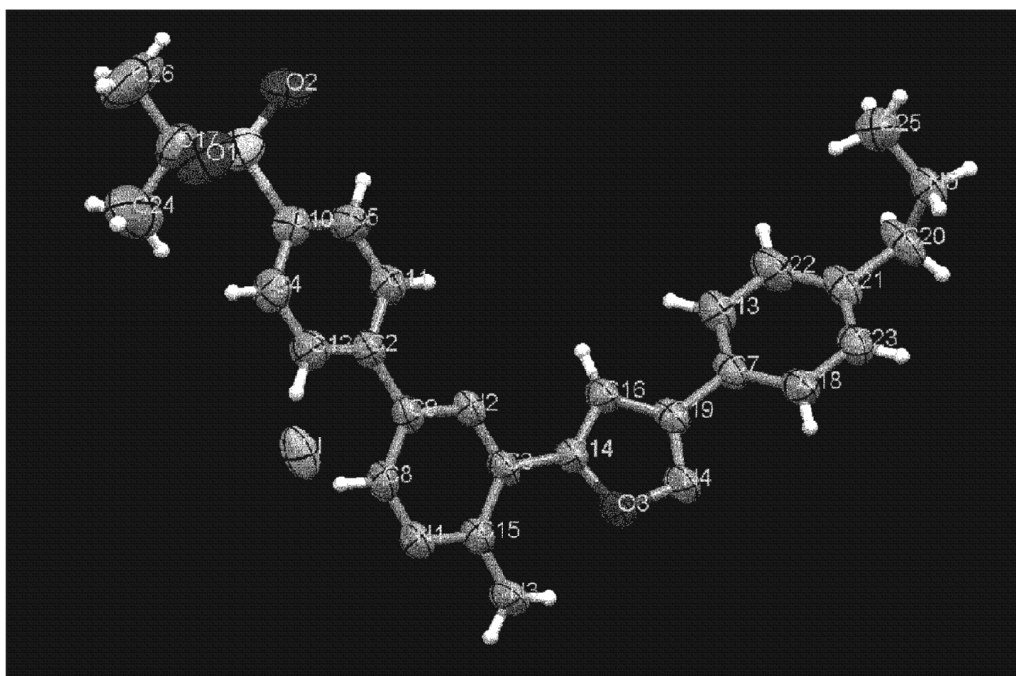
**FIGURA 2b: TGA Compuesto I-2 · HCl**



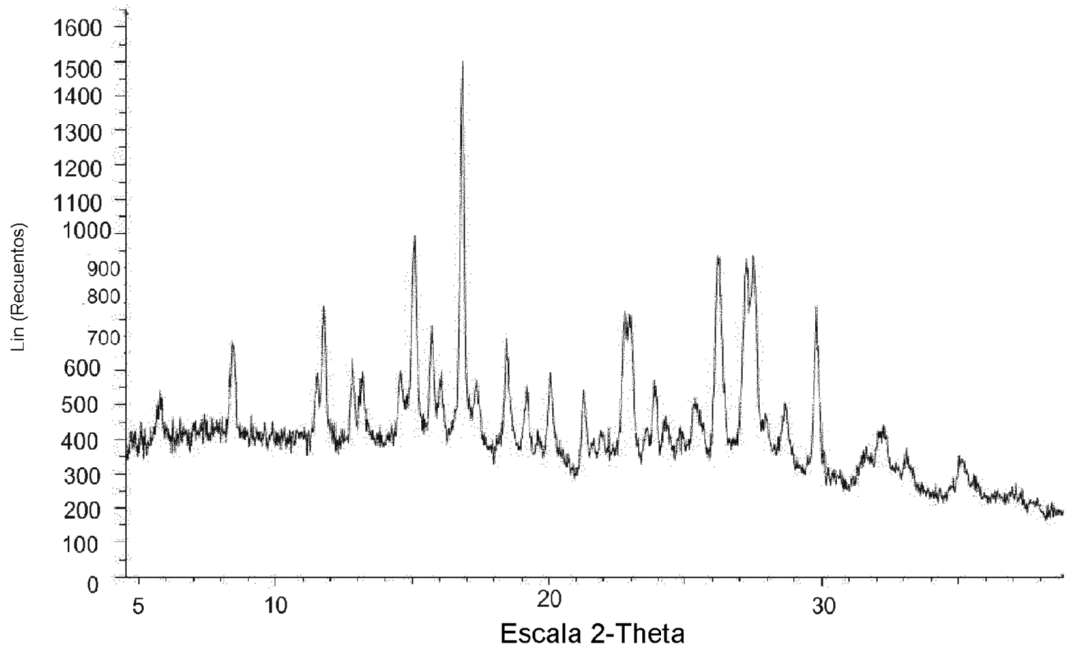
**FIGURA 3b: DSC Compuesto I-2 · HCl**



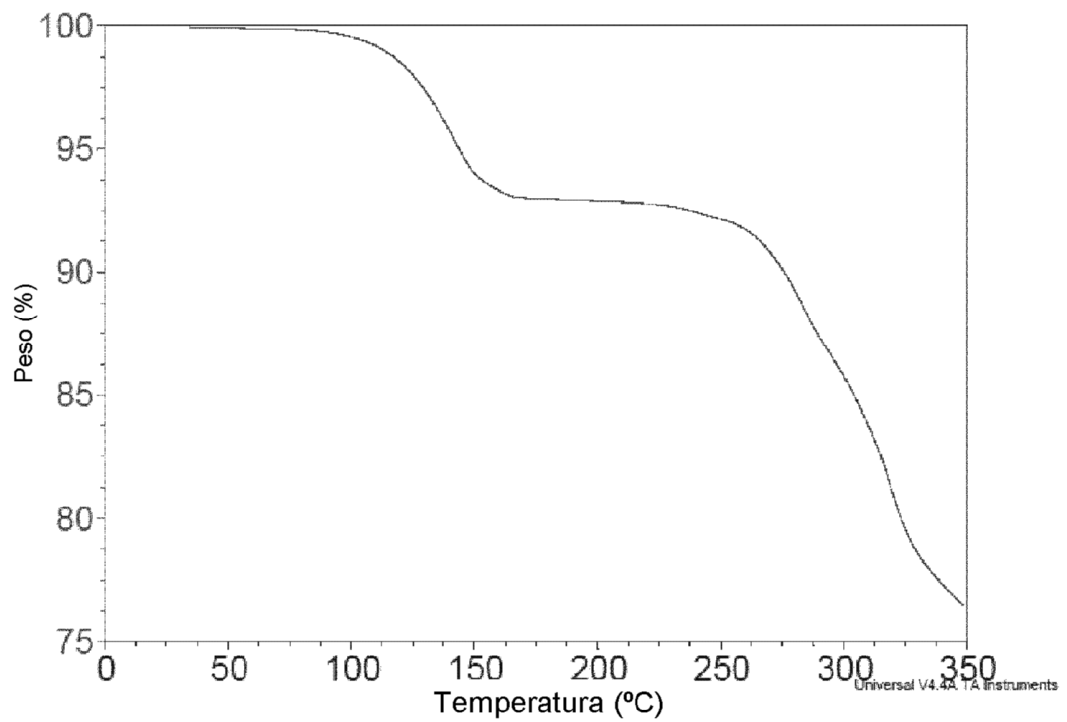
**FIGURA 4b: representación ORTEP de la unidad asimétrica de la estructura anhidra del Compuesto I-2 · HCl**



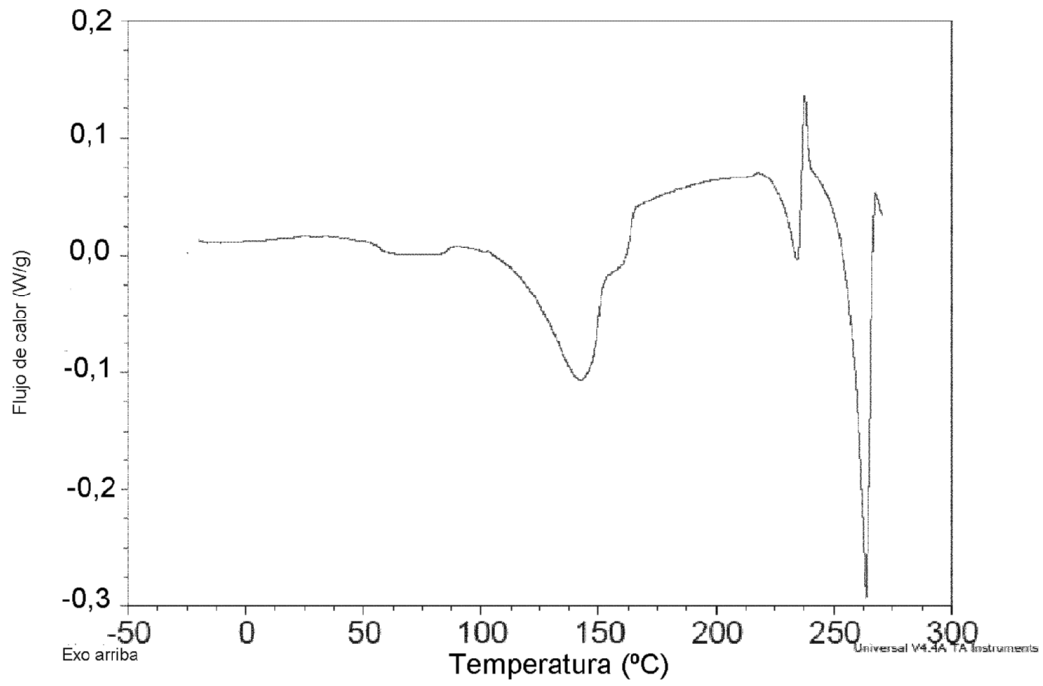
**FIGURA 1c: XRPD Compuesto I-2 · 2HCl**



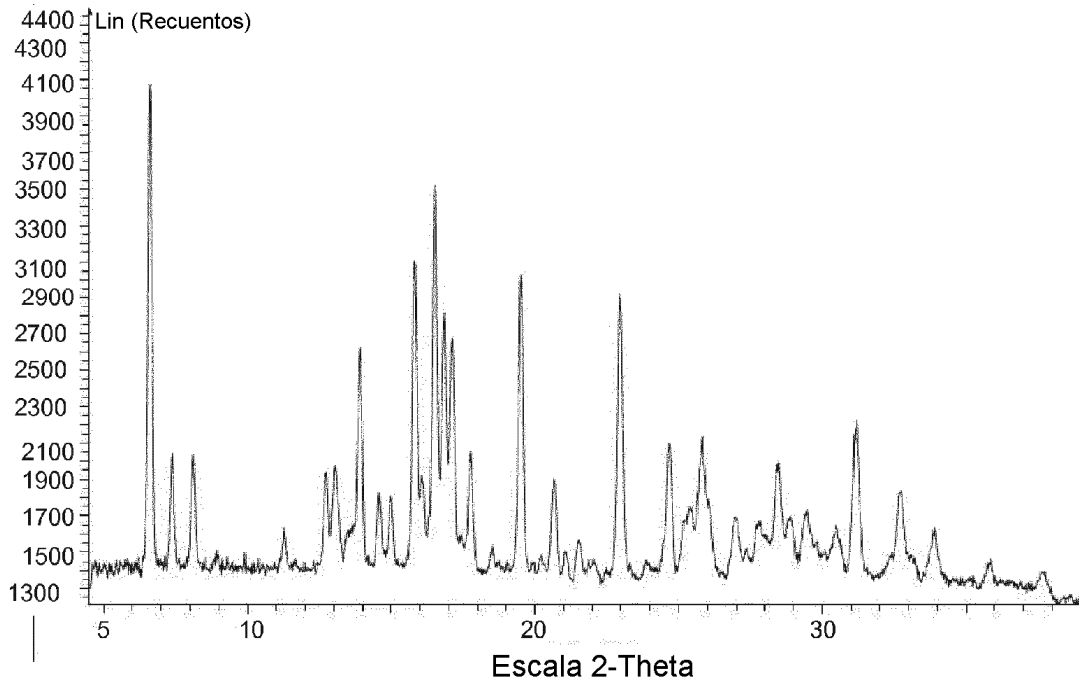
**FIGURA 2c: TGA Compuesto I-2 · 2HCl**



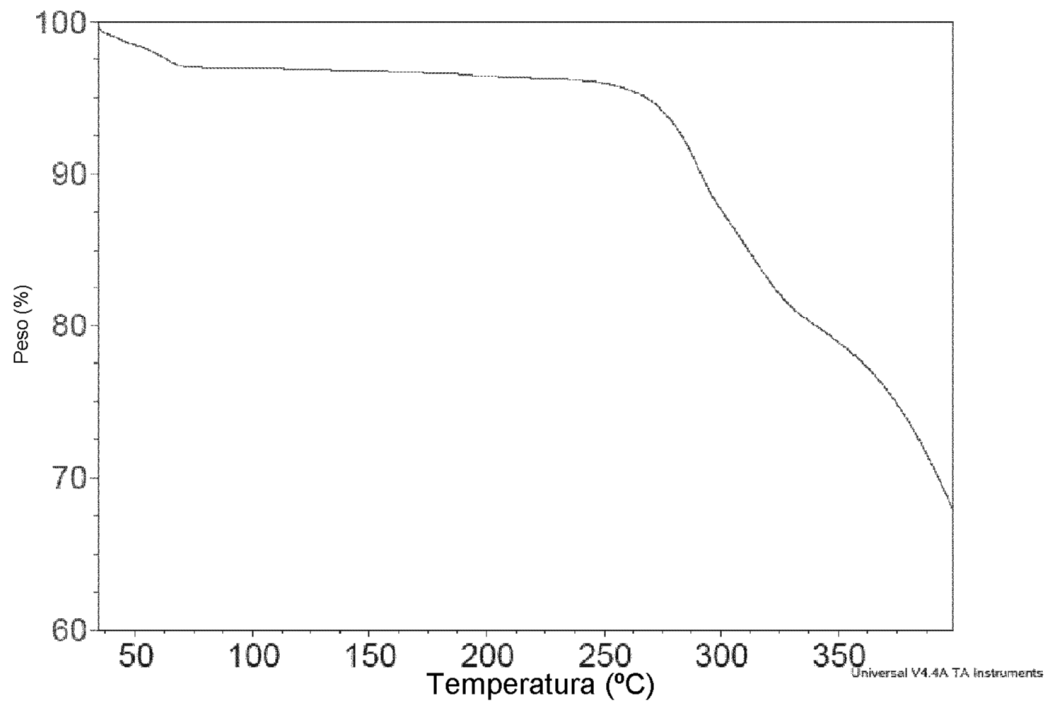
**FIGURA 3c: DSC Compuesto I-2 · 2HCl**



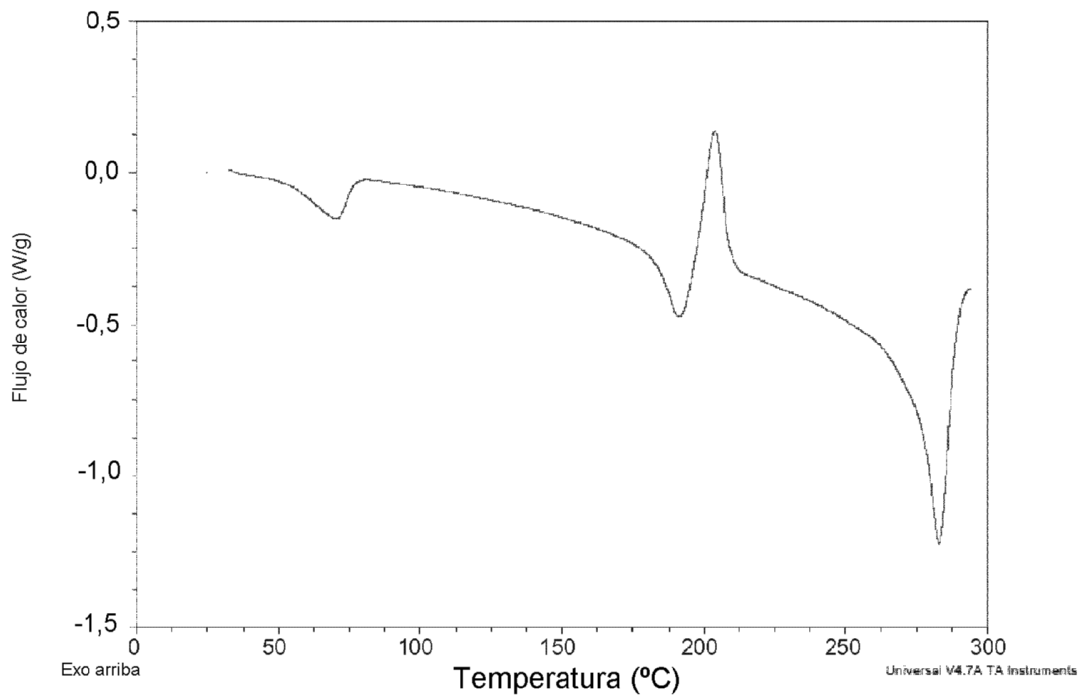
**FIGURA 1d: XRPD Compuesto I-2 · monohidrato HCl**



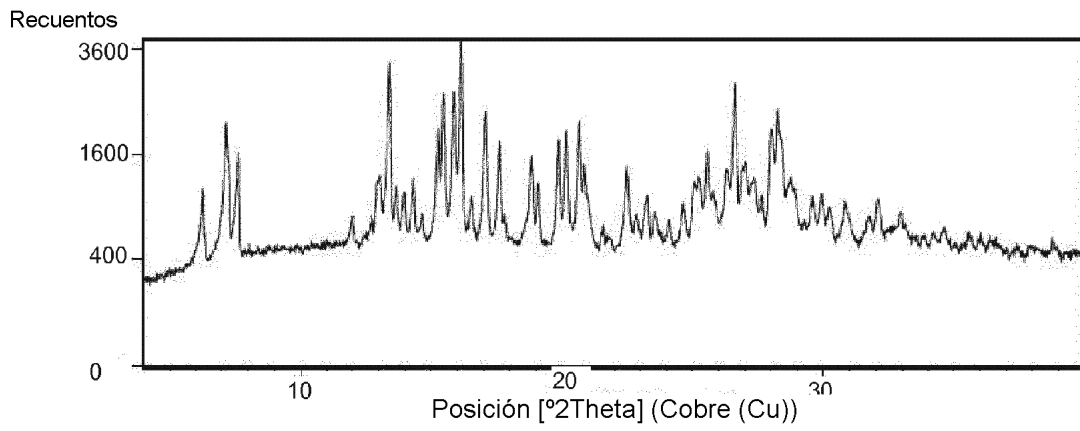
**FIGURA 2d: TGA Compuesto I-2 · monohidrato HCl**



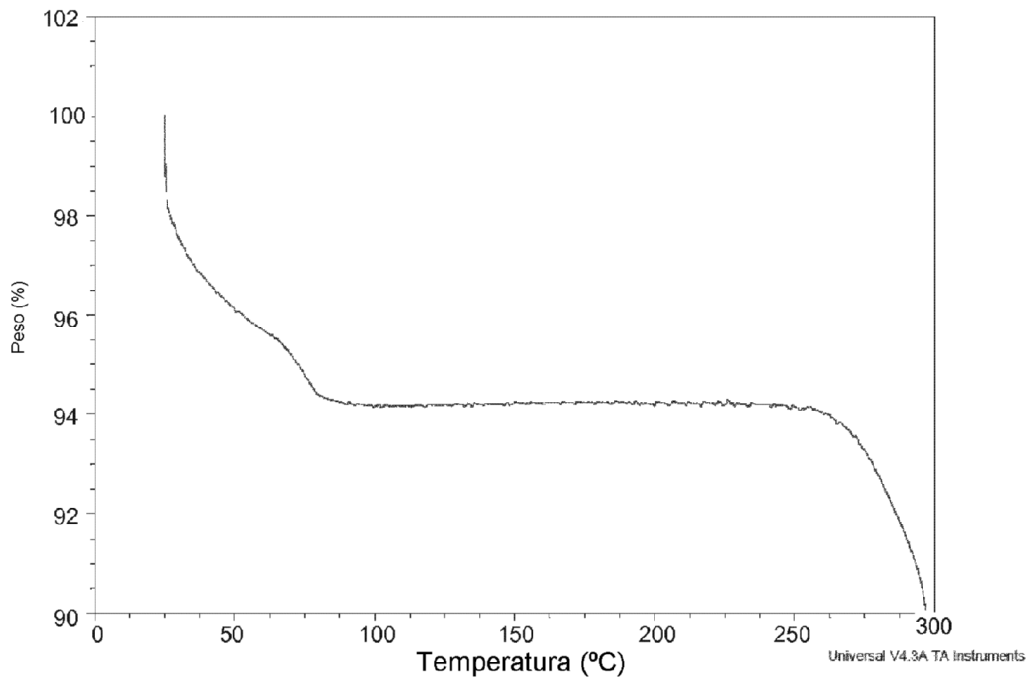
**FIGURA 3d: DSC Compuesto I-2 · monohidrato HCl**



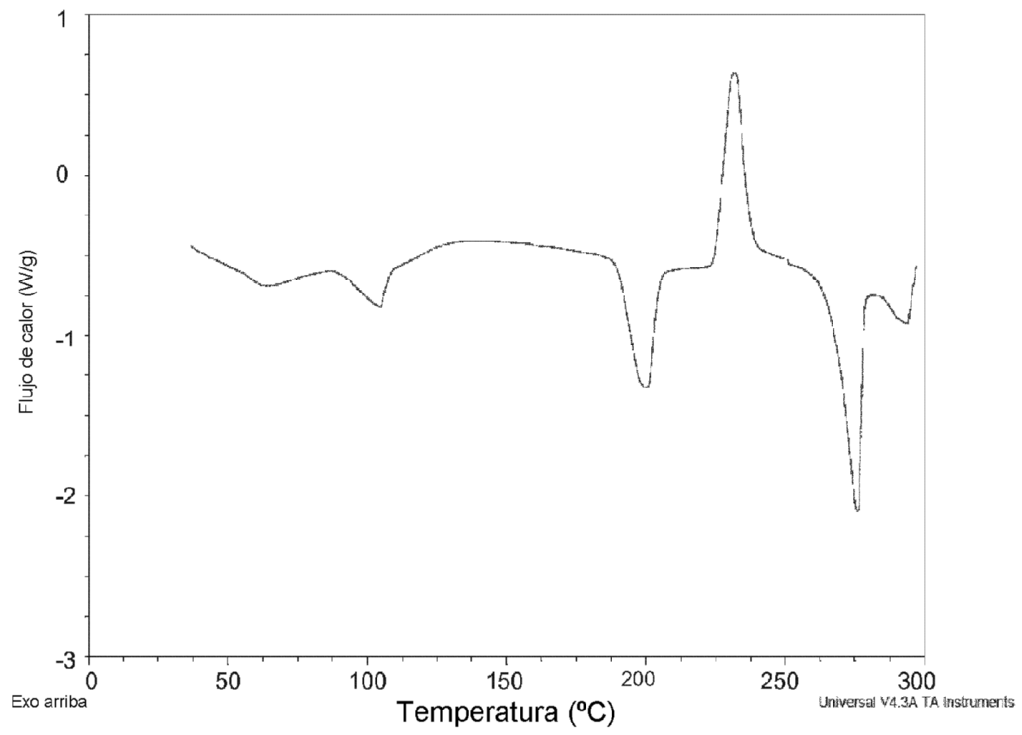
**FIGURA 1e: XRPD Compuesto I-2 · HCl · 2H<sub>2</sub>O**



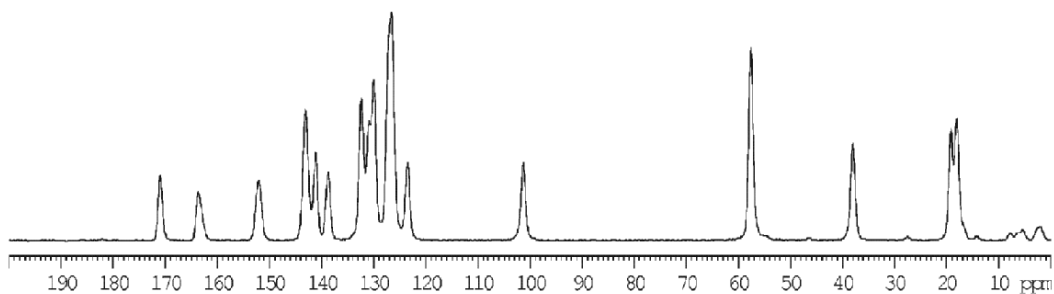
**FIGURA 2e: TGA Compuesto I-2 · HCl · 2H<sub>2</sub>O**



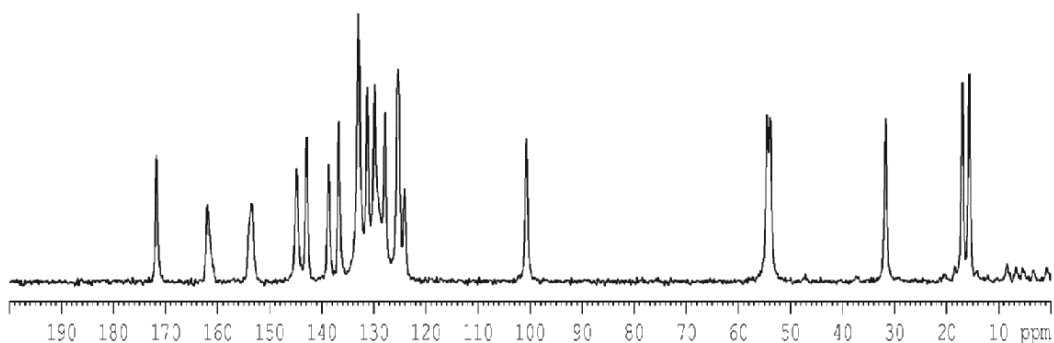
**FIGURA 3e: DSC Compuesto I-2 · HCl · 2H<sub>2</sub>O**



**FIGURA 5a: RMN  $^{13}\text{C}$  de estado sólido de la base libre del Compuesto I-2**



**FIGURA 5b: RMN  $^{13}\text{C}$  de estado sólido del Compuesto I-2 · HCl**



**FIGURA 5c: RMN  $^{13}\text{C}$  de estado sólido del Compuesto I-2 · 2HCl**

