

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 403**

51 Int. Cl.:

C07D 239/48 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/33 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2015 PCT/CN2015/089499**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2016 WO16041472**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2015 E 15842179 (2)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3196194**

54 Título: **Derivados de pirimidina útiles como inhibidores selectivos de JAK3 y/o JAK1**

30 Prioridad:

16.09.2014 CN 201410471468

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

17.04.2020

73 Titular/es:

SHENZHEN CHIPSCREEN BIOSCIENCES, LTD.
(100.0%)
2-601~606 BIO-Incubator Gaoxin C 1st Ave. Hi-Tech Industrial Park Nanshan District Shenzhen, Guangdong 518057, CN

72 Inventor/es:

LU, XIANPING;
YU, JINDI;
YANG, QIANJIAO;
LI, ZHIBIN;
PAN, DESI;
SHAN, SONG;
ZHU, JIANGFEI;
WANG, XIANGHUI;
LIU, XIANGHENG y
NING, ZHIQIANG

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 754 403 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirimidina útiles como inhibidores selectivos de JAK3 y/o JAK1

Campo

5 La presente invención pertenece al campo de la medicina y se refiere a compuestos heterocíclicos aromáticos que tienen actividad inhibidora de Janus quinasa 3 (JAK3) y/o Janus quinasa 1 (JAK1). La presente invención también se refiere al método de preparación de los compuestos, la composición farmacéutica que comprende el compuesto como ingrediente activo y el uso farmacéutico de los mismos. El compuesto de la presente invención puede usarse como el inhibidor de la quinasa JAK3 y/o JAK1, y usarse para las aplicaciones clínicas, tales como el tratamiento/prevenición de enfermedades relacionadas con actividades anormales de estas quinasas, incluyendo enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, cánceres y otras enfermedades.

Antecedentes

15 En 2002, Manning et al. identificaron un total de 518 genes de la proteína quinasa en el genoma humano, en los que 218 genes están estrechamente relacionados con la aparición y el desarrollo de enfermedades humanas (Manning G, et al. 2002, Science, 298: 1912-1934). En los medicamentos obtenidos hasta ahora, hay hasta un 20% de productos farmacéuticos que usan enzimas como objetivos y, particularmente, los medicamentos dirigidos a las proteínas quinasas son de valor especial en aplicaciones clínicas.

20 La proteína quinasa es un tipo de enzima dependiente de la mensajería intracelular que cataliza la fosforilación de proteínas particulares e implementa procesos de señalización, que incluyen principalmente proteínas tirosina quinasas (JAK, Src, Abl, EGFR, FGFR, PDGFR, etc.), serina/treonina proteína quinasas (PKC, MAPK, Rho quinasas, etc.), proteínas quinasas biespecíficas (MAPKK) y fosfatidil inositol quinasa (PI3K). El proceso de fosforilación/desfosforilación de una proteína quinasa puede regular diversos procesos biológicos en diferentes células, como el metabolismo, la diferenciación celular, la supervivencia celular, la apoptosis, la organogénesis, la angiogénesis y la respuesta inmune, etc. (Shchemelinin I., et al. 2006, Folia Biol., 52: 81-100).

25 Las JAK quinasas (Janus quinasas, referidas como JAK para abreviar, incluidos los 4 miembros conocidos: JAK3, JAK1, TYK2 y JAK2) son una familia pequeña en la superfamilia intracitoplasmática de proteína tirosina proteína quinasa no receptora. JAK3 se distribuye en la médula y el sistema linfático, mientras que JAK1, TYK2 y JAK2 se distribuyen ampliamente en una pluralidad de células de tejido. Cuando los JAK se unen a un receptor de citocinas en la superficie de la célula, los JAK acoplados al receptor se activan y, por lo tanto, el receptor se fosforila, lo que proporciona sitios de respuesta de reclutamiento, es decir, proteínas STAT fosforiladas de JAK, para transductores de señales citoplasmáticas y activadores de la transcripción, proteínas STAT (STAT1-4, STAT5a, STAT5b y STAT6). Después de la dimerización, las proteínas STAT fosforiladas de JAK se transfieren al núcleo y regulan la expresión génica. Esta ruta se denomina ruta de señalización JAK/STAT (O'Shea J. J., et al. 2013, N. Engl. J. Med., 368: 161-170).

35 La ruta de señalización JAK/STAT es una ruta de transducción de señal estimulada por una pluralidad de citocinas y receptores de factores de crecimiento. Estos factores incluyen interleucinas (IL-2-7, IL-9, IL-10, IL-15 e IL-21), interferones (IFN- α , IFN- β e IFN- γ), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), hormona del crecimiento (GH), prolactina (PRL), trombopoyetina (TPO), etc., que participan en la proliferación de las células inmunes y células madre hematopoyéticas, y desempeñan un papel clave en la inmunorregulación de procesos biológicos (Ghoreschi K., et al. 2009, Immunol. Rev., 228: 273-287). Diferentes subtipos de JAK quinasas pueden ser activados por diversos receptores, para lograr distintas funciones biológicas.

45 JAK1 puede unirse a IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, IL-28, IFN- α , IFN- γ , IL-6 en la familia gp130 y otros receptores que contienen γ c (Rodig S J., et al. 1998, Cell, 93: 373-383). El experimento de desactivación del gen JAK1 en un modelo de ratón ha indicado que esta enzima desempeña un papel clave en los efectos biológicos de tales receptores de citocinas descritos anteriormente (Kisseleva T., et al. 2002, Gene, 285: 1-24). JAK1 es un objetivo novedoso para enfermedades como las enfermedades relacionadas con el sistema inmune, inflamación y cánceres, etc. Los inhibidores de JAK1 se pueden usar para el tratamiento/prevenición de enfermedades, incluidas, entre otras, enfermedades autoinmunes, inflamación y tumores (Hornakova T., et al. 2010, Blood, 115: 3287-3295), tales como leucemia, linfomas, melanoma, artritis, psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, enfermedad de Behçet (Hou S., et al. 2013, Hum. Genet., 132: 1049-1058), etc.

50 Se descubrió que JAK2 tenía un papel importante en los procesos de regulación de una pluralidad de receptores, incluidos EPO, GH, PRL, IL-3, IFN- γ , etc. (Kisseleva T., et al. 2002, Gene, 285: 1-24; Levy D. E., et al. 2002, Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 3: 651-662; O'Shea J. J., et al. 2002, Cell, 109 (supl.): S121-S131). En un modelo de ratón, la eliminación del gen JAK2 puede provocar la muerte de animales anémicos (Schindler C. et al. 2007, J. Biol. Chem., 282: 20059-20063); mientras que en humanos, una mutación básica JAK2V617F en el gen JAK2 está estrechamente relacionada con la aparición de enfermedades mieloproliferativas, que incluyen policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis idiopática (IMF) y leucemia mielógena crónica (CML), etc. (Ghoreschi K., et al. 2009, Immunol. Rev., 228: 273-287). Por lo tanto, JAK2 se ha convertido en un objetivo exacto para el tratamiento/prevenición de tales enfermedades.

JAK3 regula la señalización celular mediante la unión a la cadena común gamma (γ c) en los complejos receptor de citocina, como IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. La mutación en JAK3 o γ c puede conducir a una inmunodeficiencia combinada severa (SCID) (Villa A., et al. 1996, *Blood*, 88: 817-823). La actividad anormal de JAK3 se representa como una reducción significativa de las células T y las células NK, y la pérdida de funciones de las células B, lo que tiene un fuerte impacto en las funciones biológicas normales del sistema inmune, etc. En base a sus características funcionales y distribución tisular especial, JAK3 se ha convertido en un objetivo farmacéutico prometedor para las enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario y, por lo tanto, sus inhibidores tendrán un gran valor clínico en el tratamiento/prevenición de la artritis reumatoide (AR), enfermedad de Crohn, lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, psoriasis, enfermedades alérgicas, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, leucemia, linfoma, trasplante de órganos y otras enfermedades (Papageorgiou AC, et al. 2004, *Trends Pharm. Sci.*, 2004, 25: 558-562).

TYK2 es el primer miembro de la familia JAK y puede activarse mediante una pluralidad de receptores, como los interferones (IFN), IL-10, IL-6, IL-12, IL-23 e IL-27. En ratones, la pérdida de la función de TYK2 puede conducir a una deficiencia en las vías de señalización de muchos receptores de citocinas, lo que puede provocar una infección viral y disminuir la función inmune antibacteriana y, por lo tanto, aumentar la posibilidad de infección en los pulmones (Kisseleva T., et al. 2002, *Gene*, 285: 1-24). Además, la investigación en el grupo de Lamer A. C. ha demostrado que TYK2 es útil para suprimir el crecimiento y la metástasis del cáncer de mama (Zhang Q., et al. 2011, *J. Interferon Cytokine Res.*, 31: 671-677); recientemente, este grupo también ha publicado que TYK2 facilita la regulación de la obesidad mediante la diferenciación del tejido adiposo marrón (BAT) en ratones y humanos, de modo que puede proteger a los organismos de la obesidad, o incluso revertirla (Derecka M., et al., 2012, *Cell Metab.*, 16: 814-824). Esto podría proporcionar una nueva oportunidad para pacientes con sobrepeso que padecen cáncer.

En noviembre de 2012, el inhibidor de pan-JAKs Xeljanz (Tofacitinib) de Pfizer fue aprobado por la FDA para el tratamiento de la AR. En octubre de 2013, la compañía reveló los datos clínicos de fase III de Xeljanz para el tratamiento de la psoriasis. En comparación con la prueba doble ciego de Enbrel (Etanercept), este medicamento cumplía con los requisitos para un ensayo de no inferioridad. Sin embargo, Xeljanz posee algunos efectos secundarios, por ejemplo, puede dar lugar a una menor cantidad de eritrocitos y leucocitos y a un mayor nivel de colesterol. Esto podría estar relacionado con su alta actividad inhibidora del JAK2 y su baja selectividad (Zak M., et al. 2012, *J. Med. Chem.*, 55: 6176-6193). Por lo tanto, aún se requieren nuevas investigaciones y descubrimientos con relación a los inhibidores selectivos de JAK.

Existen varios inhibidores selectivos de JAK en diferentes fases clínicas utilizadas para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, como la AR, la enfermedad de Crohn, la psoriasis y la mielofibrosis, incluido el inhibidor selectivo de JAK3 VX-509, el inhibidor selectivo de JAK1 GLPG0634 (Feist E., et al. 2013, *Rheumatology*, 52: 1352-1357) e INCB39110 (<http://www.incyte.com/research/pipeline>), etc. Además, se han descrito algunas patentes para inhibidores selectivos con diferentes tipos de estructura: 1) inhibidores selectivos de JAK3, tales como pirrolo[1,2-b]piridazina (documento WO2012125887), pirazolo[3,4-d]pirimidina (documentos WO2011048082, WO2011134861, WO2012022681), diaminopirimidinas (documentos WO2011090760, WO2011029807, WO2012015972), pirrolo[2,3-b]piridina (documento JP2012012332), diamino-piridinil-3-formamida (documentos WO2010061971, US20120108566), pirrolo[2,3-b]pirazina (documentos WO2011144584, WO2011144585); 2) inhibidores selectivos de JAK1, tales como compuestos tricíclicos (documento WO2011086053), pirazoles y pirrolos sustituyentes (documentos WO2010135650, WO2011112662), anilinoftalazinas (documento WO2012037132). Además, también se han descrito patentes para los inhibidores selectivos de JAK2 y los inhibidores selectivos de TYK2, y los inhibidores con ambos subtipos (JAK3/1, JAK1/2), que no se describirán más en este documento.

La quinasa inducible de células T (ITK), también conocida como Emt o Tsk, es una de las tirosina quinasa no receptoras de la familia Tec. ITK se expresa en células T, células NKT y mastocitos. Esta quinasa desempeña un papel clave en la regulación de la vía de señalización del receptor de células T (TCR), CD28, CD2, receptor de quimiocinas CXCR4 y Fc ϵ R, etc. La secreción de citocinas de tipo Th2 (incluidas IL-4, IL-5 e IL-13, etc.) desempeña un papel importante en la regulación de la inflamación inmune. La deficiencia de ITK tiene un impacto en la respuesta de las células Th2 y, por lo tanto, alivia la reacción inflamatoria crónica o tardía (Sahu N., et al. 2009, *Curr. Top. Med. Chem.*, 9: 690-703; Lin T. A., et al. 2004, *Biochemistry*, 43: 11056-11062). Las linfocinas quinasa de células B (BLK) son una de las tirosina quinasa no receptoras de la familia Src, que se expresa en los linfocitos B y se relaciona con el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos B. La unión estrecha entre la quinasa BLK o la fosfatasa y los correceptores correspondientes tiene un efecto importante en la regulación de la ruta de señalización del receptor de células B (BCR), por ejemplo, dicha quinasa puede influir en la apoptosis y el retraso de la formación de BCR (Texido G, et al. 2000, *Mol. Cell Biol.*, 20: 1227-1233). BLK también tiene una influencia importante en la activación de NF- κ B mediada por el receptor de células B (Saijo K., et al. 2003, *Nat. Immunol.*, 4: 274-279). Investigaciones recientes han demostrado que BLK está relacionado con la patogénesis de la AR, el lupus eritematoso sistémico y muchas otras enfermedades autoinmunes (Simpfendorfer K R., et al. 2012, *Hum. Mol. Genet.*, 21: 3918-3925; Génin E., et al. 2013, *PLoS One*, 8: e61044).

La quinasa de unión a TANK (TBK1), también conocida como NAK (quinasa activadora de NF- κ B) o T2K, es un tipo de proteína quinasa Ser/Thr en la familia IKK. TBK1 se expresa ampliamente en el estómago, el colon, el pulmón, el timo y el hígado del ratón; y también se expresa en los órganos linfoides y no linfoides del ser humano, incluidos el

bazo, el cerebro y los riñones, etc. Esta quinasa tiene influencia en la regulación de la respuesta inmune en bacterias y virus, y en la expresión de factores relacionados con la inflamación, como IL-6, TNF- α e IFN- β , etc. En la ruta de señalización de la insulina, TBK1 puede mediar la fosforilación de Ser994 en el receptor de insulina y el metabolismo de los lípidos. Estos resultados han indicado que TBK1 desempeña un papel importante en varios mecanismos inmunobiológicos e inmunopatológicos (Yu T., et al. 2012, *Mediators Inflamm.*, 2012: 979105-979112; Hammaker D., et al. 2012, *Rheumatology*, 51: 610-618).

La familia del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) que incluye 3 miembros, es decir, VEGFR-1 (Flt1), VEGFR-2 (KDR/Flk1) y VEGFR-3 (Flt4), consta de 7 regiones extracelulares con estructura tipo inmunoglobulina, un región de membrana y una región de tirosina quinasa, en la que la actividad de tirosina quinasa se activa a través de la unión entre el receptor y el ligando, como VEGFs A-F y el factor de crecimiento placentario, lo que induce aún más diversos efectos biológicos en las células, como efectos importantes sobre el crecimiento y diferenciación de las células (Shibuya M., et al. 2010, *Genes Cancer*, 1: 1119-1123). Otras investigaciones han demostrado que VEGFR1 se expresa en endotelocitos, monocitos y macrófagos de pacientes con AR. VEGFA puede activar VEGFR1 y dar lugar a la proliferación de endotelocitos y angiopoyesis. La proteína VEGFA se expresa altamente en sinovia, linfa, suero y tejido sinovial de pacientes con AR, y el nivel de VEGFA se correlaciona positivamente con la AR. VEGFR2 se expresa en el tejido sinovial de pacientes con AR. VEGF A, C y D pueden activar la señalización de VEGFR2 y mejorar la permeabilidad vascular y la angiopoyesis. El VEGFC se puede detectar en varios tipos de células en la capa interna sinovial engrosada de la AR, especialmente en las células perivasculares y las células del músculo liso. VEGFR3 puede expresarse en monocitos, macrófagos, algunas células dendríticas, vasos capilares de tejido mamario normal y órganos neuroendocrinos. Se ha encontrado en algunas investigaciones que VEGFR3 contribuye a la aparición de enfermedades autoinmunes, como la AR, la enfermedad inflamatoria intestinal, las enfermedades ulcerosas y la enfermedad de Crohn, etc., y los tumores relacionados con la linfangiogénesis. Sin embargo, el mecanismo relevante no se ha entendido completamente (D'Aura Swanson C, et al. 2009, *Nat. Rev. Rheumatol.*, 5: 317-324; Aoki Y, et al. 2005, *J. Natl. Cancer Inst.*, 97: 2-3).

Los inhibidores de la proteína quinasa descritos en este documento pueden usarse para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, que incluyen, entre otras, AR, psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedades alérgicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, leucemia y linfoma, etc. Al mismo tiempo, estos compuestos o una composición farmacéutica que comprende los compuestos como ingredientes activos tendrán la máxima eficacia clínica para estas enfermedades en una ventana terapéutica segura.

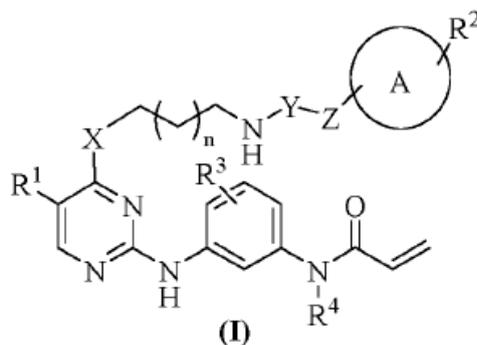
Sumario

Un aspecto de la invención está dirigido a compuestos heterocíclicos aromáticos que tienen actividad inhibidora de JAK3 y/o JAK1, incluidos sus derivados, tales como una sal, hidrato, estereoisómero y profármaco farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de preparación del compuesto descrito en este documento.

Otro aspecto más de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención como ingrediente activo, y al uso clínico del compuesto o la composición farmacéutica de la invención en el tratamiento/prevención de enfermedades relacionadas con actividades anormales de quinastas, tales como JAK, y el uso del compuesto o la composición farmacéutica de la invención en la preparación de un medicamento utilizado para el tratamiento/prevención de enfermedades relacionadas con actividades anormales de quinastas, tales como JAK.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I), que incluye un profármaco, estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.



en el que,

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, ciano, halo, alquilo C1-C6, alcoxi C1-C6, haloalquilo C1-C6, alquilcarbonilo C1-C6 y alquil C1-C6 amino;

R³ es hidrógeno o halógeno;

R⁴ es hidrógeno o alquilo C1-C4;

5 X es NH, O S;

Y es CO o S(O)₂;

Z es un enlace covalente, CH₂ o (CH₂)₂;

n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, anillo de piridina o anillo de piperidina.

10 En un aspecto preferible, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I), que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que,

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

15 R³ es hidrógeno o halógeno;

R⁴ es hidrógeno o metilo;

X es NH u O;

Y es CO o S(O)₂;

Z es un enlace covalente, CH₂ o (CH₂)₂;

20 n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, anillo de piridina o anillo de piperidina.

En un aspecto más preferible, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, la que,

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

25 R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

R³ es hidrógeno o flúor;

R⁴ es metilo;

X es NH;

30 Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, anillo de piridina.

35 En un aspecto más preferible, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que,

R¹ es cloro, flúor o metilo;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

R³ es hidrógeno o flúor;

40 R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n es un número entero de 1 a 4; y

5 el anillo A es un anillo de benceno.

En un aspecto más preferible, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que,

R¹ es cloro;

10 R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

R³ es hidrógeno o flúor;

R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

15 Z es un enlace covalente;

n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno.

En un aspecto particularmente preferible, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que,

20 R¹ es cloro;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, flúor y trifluorometilo;

R³ es hidrógeno o flúor;

R⁴ es metilo;

X es NH;

25 Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n = 1;

el anillo A es un anillo de benceno.

30 En un aspecto particularmente preferible, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que,

R¹ es cloro;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en ciano;

R³ es hidrógeno o flúor;

R⁴ es metilo;

35 X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n = 1; y

el anillo A es un anillo de benceno.

Breve descripción de los dibujos

5 La Fig. 1 es un diagrama esquemático que muestra el principio del ensayo de actividad de la quinasa Z'-LYTE, que refleja los pasos involucrados en la prueba, incluida la reacción entre la quinasa y su sustrato, la reacción cromogénica y la detección.

Descripción detallada de las realizaciones

El "halógeno" descrito en este documento se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo y, particularmente, a flúor, cloro o bromo.

10 El "alquilo" descrito en este documento incluye alquilo lineal, ramificado o cíclico. Preferiblemente, el alquilo es alquilo C1-C8 o alquilo C1-C6; y, particular y preferiblemente, el alquilo es alquilo C1-C4; y, más particular y preferiblemente, el alquilo es metilo, etilo, propilo o isopropilo, n-butilo, isobutilo o t-butilo. El alquilo en el compuesto de la presente invención puede estar opcionalmente sustituido o no sustituido y el sustituyente puede incluir alquilo, halógeno, alcoxi, hidrocarbilo e hidroxilo, etc. Los ejemplos del alquilo de la presente invención incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, n-pentilo, isopentilo, n-hexilo, isohexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo, etc.

15 El "alcoxi" descrito en el presente documento se refiere al grupo formado uniendo el alquilo anterior a un átomo de oxígeno, en el que el átomo de oxígeno puede formar un enlace libremente, tal como metoxilo, etoxi, propoxi, butoxi, pentoxi, isopropoxi, t- butoxi, ciclopropoxi y ciclohexiloxi, etc.

20 El "alquilcarbonilo" descrito en el presente documento se refiere al grupo formado uniendo el alquilo anterior a un carbonilo, tal como acetilo, propionilo, isopropionilo, butirilo, t-butililo, ciclopropionilo y ciclohexanoilo, etc.

El "alquilamino" descrito en el presente documento se refiere al grupo formado uniendo el alquilo anterior a un grupo amino, tal como metilamino, etilamino y 4-dimetilamino, etc.

25 El término "farmacéutico" o "farmacéuticamente aceptable" descrito en este documento puede entenderse como adecuado para el uso en humanos y animales en un alcance razonable de la medicina, y tolerable y sin efectos secundarios inaceptables, incluyendo toxicidad, alergia, estimulación, complicaciones, etc.

30 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) mencionado anteriormente que incluye un estereoisómero, sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo y un vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable. etc. El vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable se refiere a cualquier diluyente, auxiliar y vehículo que pueda usarse en el campo farmacéutico, tales como, entre otros, los materiales enumerados en el "Manual de Excipientes Farmacéuticos", 8ª edición, 2013.

35 El compuesto descrito en la presente invención se puede usar opcionalmente en combinación con uno o más ingredientes activos, en los que cualquier persona experta en la técnica pueda determinar la dosificación de cada componente y la proporción de los mismos en función de un trastorno específico, condición específica del paciente y los requisitos clínicos.

40 El compuesto o la composición farmacéutica descrita en la presente invención se puede preparar en cualquier forma de dosificación que comprende un excipiente común en el campo farmacéutico, tal como, entre otros, una formulación oral (tableta, cápsula, polvo, gránulo, jarabe, píldora, etc.), inyección, formulación tópica, etc. La formulación de la presente invención usualmente contiene 0,5-70% de ingrediente activo en peso y, preferiblemente, 1-20% del ingrediente activo en peso.

45 El compuesto de fórmula (I) descrito en el presente documento puede administrarse a mamíferos (incluyendo humanos) por vía oral o por inyección en la práctica clínica y, preferiblemente, por vía oral. La dosificación es 0,0001-200 mg/kg de peso corporal por día y, más preferiblemente, 0,01-100 mg/kg de peso corporal por día y, lo más preferiblemente, 0,1-50 mg/kg de peso corporal por día. Al mismo tiempo, la mejor dosis se determina según la condición del individuo, generalmente comenzando con una dosis más baja y aumentando gradualmente a una dosis más alta.

En los ejemplos y ejemplos preparativos de la presente invención, los compuestos descritos en el presente documento y los métodos de preparación de los mismos se describen e ilustran a continuación. Debe entenderse que los ejemplos preparativos y ejemplos siguientes no limitarán de ninguna manera el alcance de la invención.

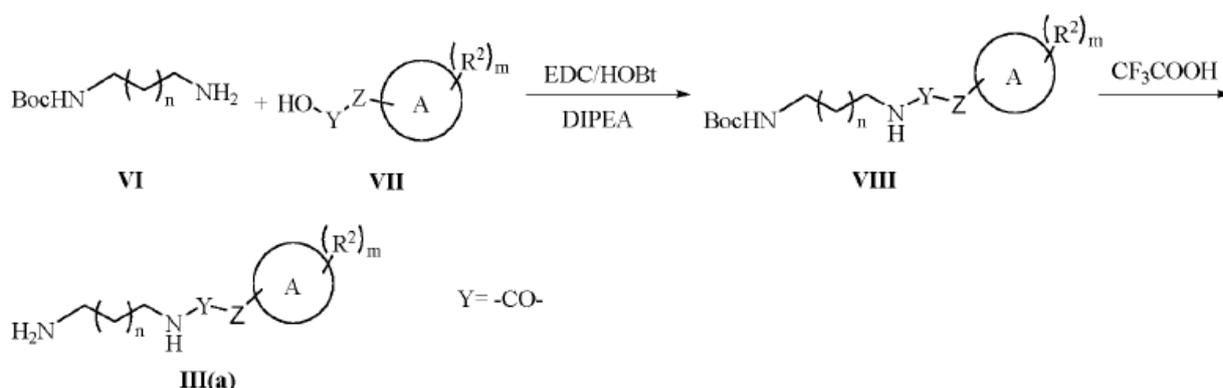
50 El método de preparación del derivado de fórmula (I) de la invención se describirá en la siguiente ruta sintética.

Las materias primas, reactivos, catalizadores, disolventes, etc. utilizados en la ruta sintética esquemática pueden prepararse mediante los métodos muy conocidos por los expertos en química orgánica o pueden estar disponibles comercialmente. Todos los derivados finales de la invención pueden prepararse mediante los métodos descritos en

el diagrama esquemático u otros métodos similares. Estos métodos son muy conocidos por los expertos en química orgánica. Todos los factores variables utilizados en estos diagramas esquemáticos se definen de la siguiente manera o de acuerdo con las reivindicaciones.

Método de preparación:

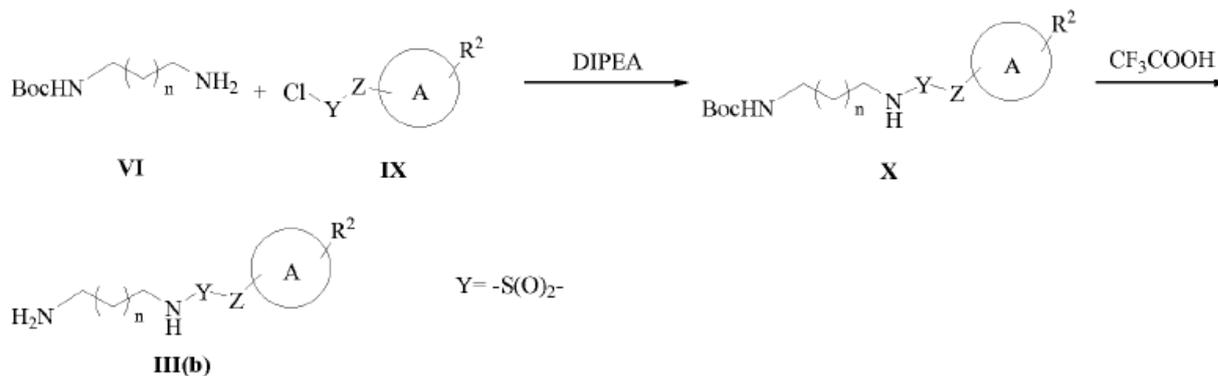
- 5 (a) El intermedio III(a) se puede comprar directamente o preparar de acuerdo con el siguiente método sintético ilustrativo:



- 10 El compuesto VIII se obtiene por condensación entre la diamina VI protegida unilateralmente y el compuesto VII. En la reacción de condensación, se usa un agente de condensación de péptidos como catalizador, tal como la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y N,N'-carbonildiimidazol (CDI), etc. La reacción se lleva a cabo a una temperatura que varía de 0-60°C durante 2-72 h. El disolvente utilizado en la reacción es un disolvente común, como benceno, tolueno, tetrahidrofurano, dioxano, diclorometano, cloroformo, N,N'-dimetilformamida, etc. Si es necesario, se pueden agregar álcalis, como hidróxido de sodio, trietilamina o piridina, etc.

- 15 El compuesto III(a) se obtiene después de la eliminación de Boc del compuesto VIII resultante bajo la acción del ácido (preferiblemente, ácido trifluoroacético). La reacción se lleva a cabo a una temperatura que varía de 0-60°C durante 0,5-2 h. El disolvente utilizado en la reacción es diclorometano, tetrahidrofurano, N,N'-dimetilformamida, etc.

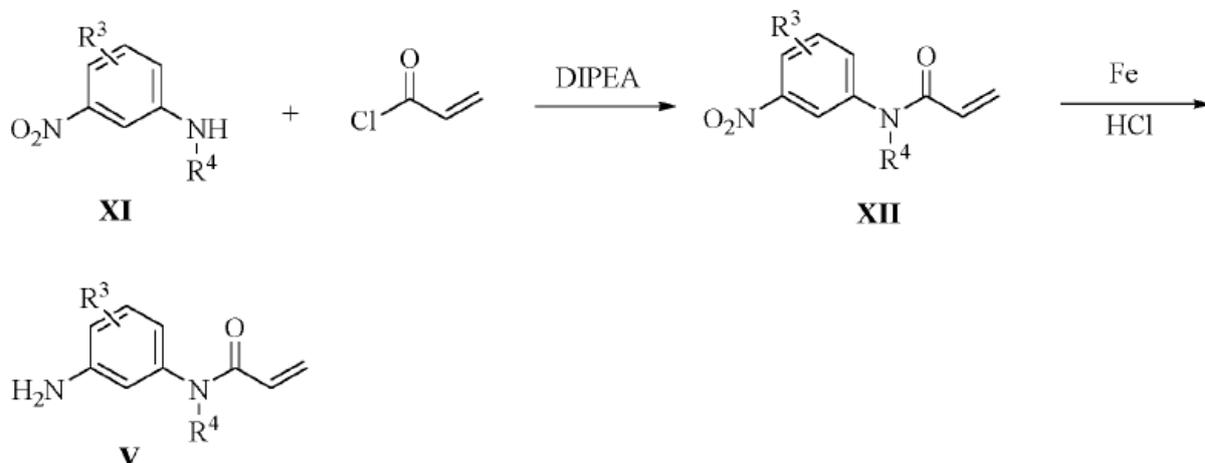
(b) El intermedio III(b) puede comprarse directamente o prepararse de acuerdo con el siguiente método sintético ilustrativo:



- 20 El compuesto X se obtiene por condensación entre la diamina VI protegida unilateralmente y el compuesto IX. La reacción se lleva a cabo a una temperatura que varía de 0-60°C durante 0,5-2 h. El disolvente utilizado en la reacción es un disolvente común, como benceno, tolueno, tetrahidrofurano, dioxano, diclorometano, cloroformo, N,N'-dimetilformamida, etc. La trietilamina, la diisopropiletilamina o la piridina se usan comúnmente como agentes aglutinantes de ácido; opcionalmente, se puede agregar una base inorgánica, como NaOH, Na₂CO₃, NaOAc, etc.

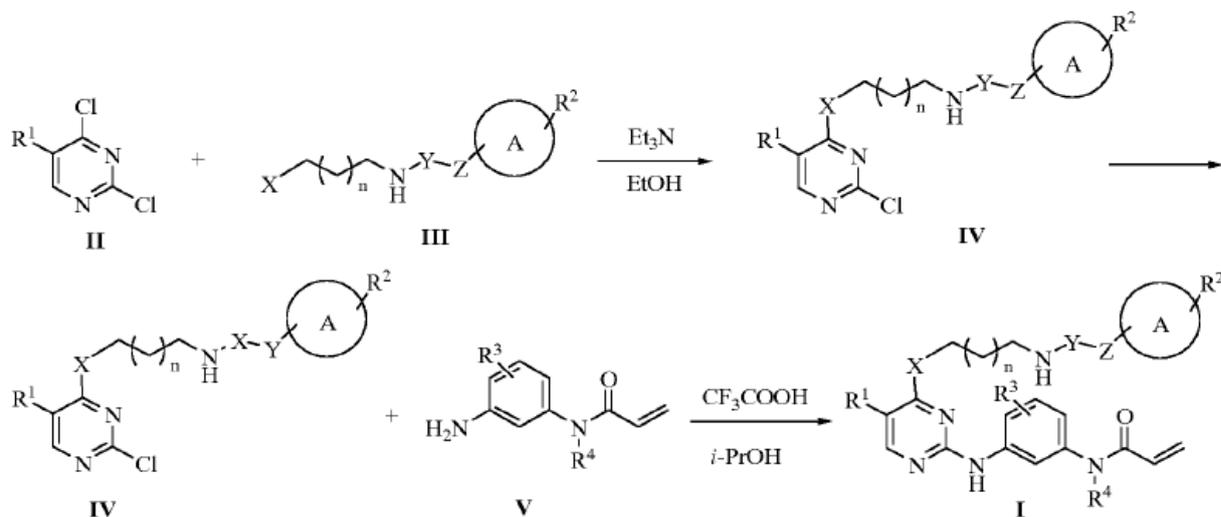
- 25 El compuesto III(b) se obtiene después de la eliminación de Boc del compuesto X resultante bajo la acción de un ácido (preferiblemente, ácido trifluoroacético). La reacción se lleva a cabo a una temperatura que varía de 0-60°C durante 0,5-2 h. El solvente común usado en la reacción es diclorometano, tetrahidrofurano, N,N'-dimetilformamida y agua, etc. El ácido utilizado puede ser ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico, etc.

- 30 (C) El intermedio V puede prepararse mediante el siguiente método sintético ilustrativo a continuación:



El compuesto XII se obtiene por condensación entre el compuesto XI (disponible comercialmente o preparado) y el cloruro de acrililo en presencia de un álcali (preferiblemente, diisopropiletilamina). El grupo nitro en el compuesto resultante XII se reduce luego con polvo de hierro para dar el intermedio objetivo V. El álcali utilizado puede ser diisopropiletilamina, o trietilamina, etc.

(D) El compuesto de fórmula (I) descrito en este documento se puede preparar mediante el siguiente método sintético ilustrativo a continuación:



El compuesto IV se obtiene por reacción de sustitución del compuesto II y el compuesto III en presencia de trietilamina, en la que ambos compuestos II y III se pueden comprar directamente. La temperatura de reacción es de refluxo durante 8-16 h. El solvente utilizado en la reacción es etanol, metanol o n-butanol, etc. El álcali utilizado es trietilamina o diisopropiletilamina, etc.

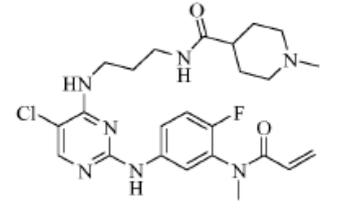
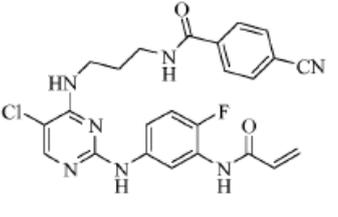
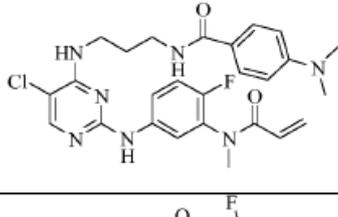
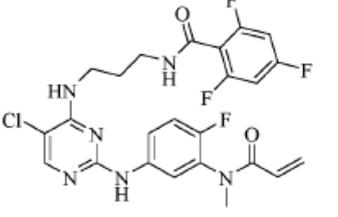
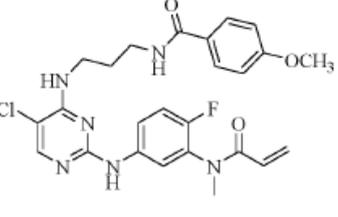
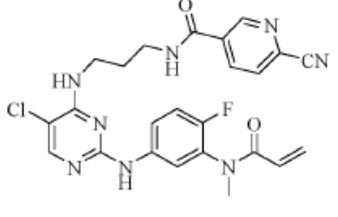
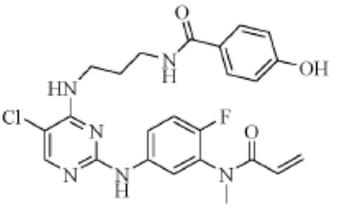
El compuesto I se obtiene por reacción de sustitución del compuesto IV y el compuesto V resultante catalizado por un ácido (preferiblemente, ácido trifluoroacético). La temperatura de reacción es de refluxo con una duración de 8-16 h. El disolvente utilizado en la reacción es isopropanol o n-butanol, etc.; y el ácido usado en la reacción es ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico, etc.

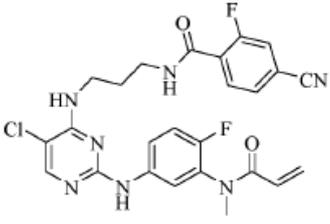
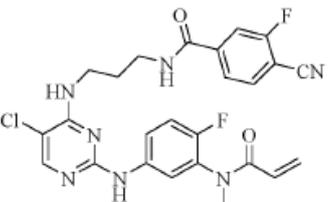
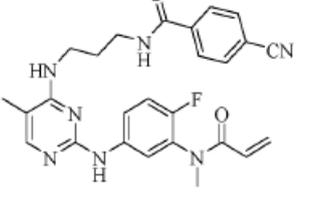
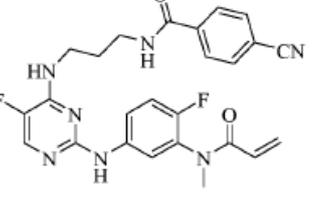
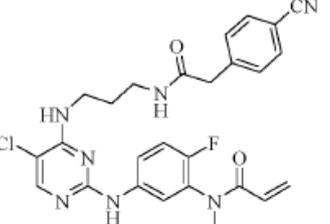
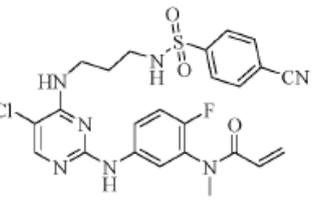
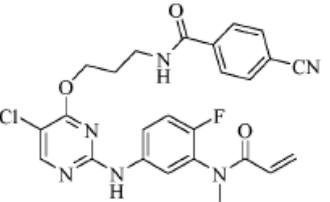
El compuesto de fórmula I puede purificarse mediante métodos de separación comunes, como extracción, recristalización o cromatografía en columna, etc.

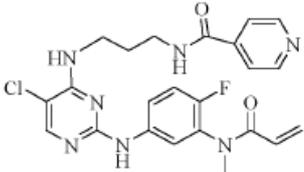
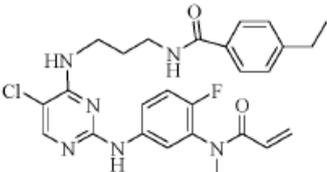
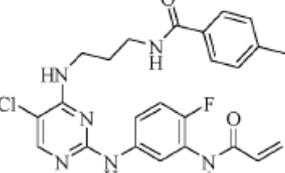
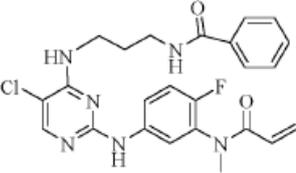
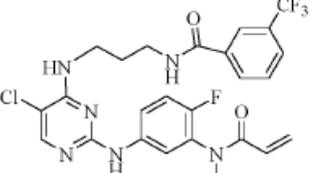
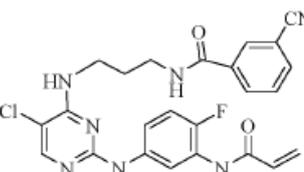
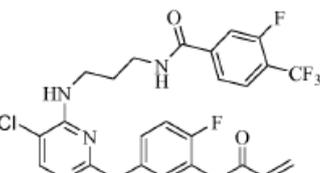
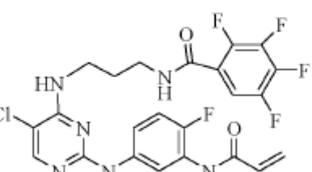
Los compuestos representativos descritos en la presente invención se exponen en la Tabla 1, El número de compuesto es equivalente al "número de ejemplo" en la Sección de Ejemplos, es decir, la síntesis del compuesto 1 en la Tabla 1 se describe en el "Ejemplo 1", y la síntesis del compuesto 30 en la Tabla 1 se describe en el "Ejemplo 30".

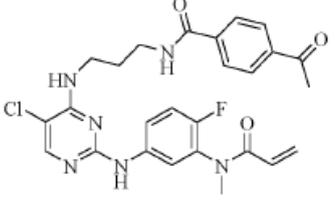
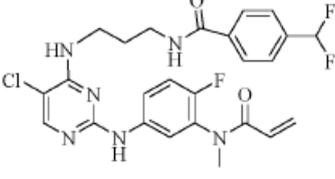
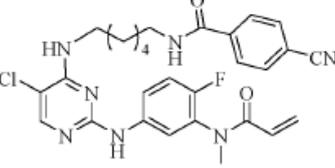
Tabla 1, Compuestos representativos de la invención

Ejemplo	Fórmula estructural	Nombre químico
7		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-cianobenzamida
13		N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometil-benzamida
17		N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida
19		4-fluoro-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil) benzamida
21		N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metil-acrilamido) fenilamino)-5-metil-pirimidinil-4-amino) propilo)-4-trifluorometilbenzamida
22		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida
23		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida

27		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-N-metilpiperidinil-4-formamida
28		N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-cianobenzamida
32		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-N,N- dimetilaminobenzamida
36		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6- trifluorobenzamida
40		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxilbenzamida
44		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-6- cianonicotinamida
48		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida

52		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-2-fluorobenzamida
56		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-3-fluorobenzamida
58		4-ciano-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil) benzamida
60		4-ciano-N-(3-(5-fluoro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida
64		N-(5-(5-cloro-4-(3-(2-(4-ciano-fenil) acetamino) propilamino) pirimidinil-2-amino)-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida
68		N-(5-(5-cloro-4-(3-(4-cianofenilsulfonamino) propilamino) pirimidinil-2-amino)-2-fluorofenil)-N-metilacrilolo
71		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-oxo) propil)-4-ciano-benzamida

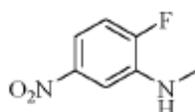
75		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-isonicotinamida
79		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-etilbenzamida
83		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metilbenzamida
87		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida
91		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometilbenzamida
95		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida
103		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida
107		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida

111		4-acetil-N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida
115		N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propilo)-4- difluorometilbenzamida
123		N-(6-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) hexil)-4-cianobenzamida

La presente invención se describirá adicionalmente por referencia a los ejemplos a continuación. Sin embargo, el alcance de la invención no se limita a estos ejemplos. El porcentaje descrito en este documento se refiere al porcentaje en peso, a menos que se indique lo contrario. Todos los intervalos numéricos, como las unidades de medida, las condiciones de reacción y los estados físicos o porcentajes de compuestos descritos en la memoria descriptiva se proporcionan como referencia evidente. Los expertos en la materia también pueden lograr los resultados esperados cuando la patente se pone en práctica con las temperaturas, concentraciones, cantidades y número de átomos de carbono, etc. fuera del intervalo o diferentes de los valores individuales.

Ejemplo 1

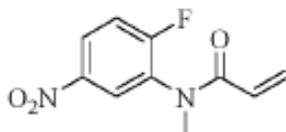
10 Preparación de 2-fluoro-N-metil-5-nitroanilina



El sólido amarillo de 2-fluoro-N-metil-5-nitroanilina (19,0 g, rendimiento del 87,0%) se preparó como sigue. Se disolvieron 2-fluoro-5-nitroanilina (20,0 g, 128,2 mmol) y paraformaldehído (16,0 g, 533,3 mmol) en 500 ml de metanol y se agitaron a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron gota a gota 100 ml de solución de metóxido de sodio (3,4 g, 63 mmol) en metanol. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, la solución de reacción se dividió en dos partes iguales, a las que se añadió NaBH_4 (9,7 g, 255,2 mmol). La mezcla se agitó durante 15 minutos. La reacción se controló por LC-MS. Después de la reacción, la mezcla se vertió en solución acuosa de KOH 1 M y se agitó para precipitar el sólido. El intermedio objetivo se obtuvo por filtración. CL-EM (m/z) 171 (M+1).

20 Ejemplo 2

Preparación de N-(2-fluoro-5-nitrofenil)-N-metilacrilamida

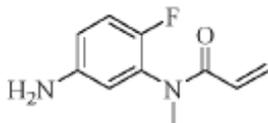


El aceite amarillo de N-(2-fluoro-5-nitrofenil)-N-metilacrilamida (12,0 g, rendimiento del 83,0%) se preparó como sigue. Se disolvieron 2-fluoro-N-metil-5-nitroanilina (11,0 g, 64,7 mmol) y DIPEA (23 ml, 129,4 mmol) en 100 ml de THF y se agitaron a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió gota a gota cloruro de acrilóilo (11 ml, 129,4 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mayor parte del disolvente de reacción se eliminó

por evaporación. La solución se diluyó luego añadiendo 100 ml de acetato de etilo, se lavó con solución salina saturada, se secó, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el intermedio objetivo. CL-EM (m/z) 225 (M+1).

Ejemplo 3

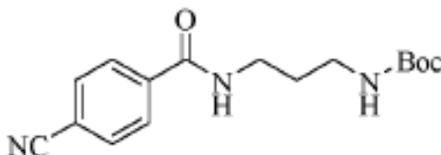
- 5 Preparación de N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida



10 El aceite marrón de N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (5,6 g, rendimiento del 54,0%) se preparó como sigue. El polvo de hierro (20,0 g, 357 mmol) y NH₄Cl (20,0 g, 374 mmol) se disolvieron en 200 ml de agua, se calentaron a 80°C y se agitaron durante 0,5 h. Posteriormente, se añadieron 20 ml de solución de N-(2-fluoro-5-nitrofenil)-N-metilacrilamida (12,0 g, 53,6 mmol) en acetato de etilo. Después de agitar a 80°C durante 1 h, la solución de reacción se ajustó a pH alcalino mediante una solución acuosa de NaHCO₃. El lodo de hierro se filtró y el filtrado se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar el intermedio objetivo. CL-EM (m/z) 195 (M+1).

Ejemplo 4

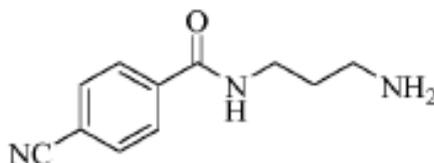
- 15 Preparación del éster t-butilico del ácido N-(4-ciano-benzamino) propilaminofórmico



20 Se preparó un sólido blanco de éster t-butilico del ácido N-(4-ciano-benzamino)propilaminofórmico (850 mg, rendimiento del 98,0%) como sigue. El éster t-butilico del ácido 3-aminopropilaminofórmico (500 mg, 2,87 mmol) se disolvió en 20 ml de THF, al que hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (1,0 g, 5,24 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (580 mg, 4,30 mmol), se añadieron DIPEA (1 ml, 5,63 mmol) y ácido 4-cianobenzoico (425 mg, 2,89 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Posteriormente, el valor de pH de la mezcla se ajustó a 8-10 por solución acuosa de NaHCO₃. La mezcla se extrajo luego con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar el intermedio objetivo. CL-EM (m/z) 304 (M+1).

Ejemplo 5

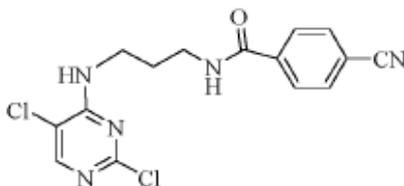
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida



30 El sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida (350 mg, rendimiento del 62,0%) se preparó como sigue. El éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-benzamino) propilaminofórmico (850 mg, 2,8 mmol) se disolvió en 10 ml de diclorometano, al que se añadió ácido trifluoroacético (500 µl, 6,7 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h, la solución de reacción se ajustó a pH alcalino mediante una solución acuosa de NaHCO₃. Después de evaporar a sequedad, se añadió una solución mixta de diclorometano/metanol (10:1) y luego se sometió a ultrasonido. Después de filtrar el sólido, el filtrado se evaporó a sequedad para dar el intermedio objetivo. CL-EM (m/z) 204 (M+1).

Ejemplo 6

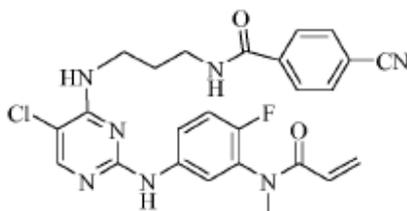
Preparación de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida



5 El sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (3,5 g, rendimiento del 78,0%) se preparó como sigue. 2,4,5-tricloropirimidina (2,6 g, 14,2 mmol), N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida (2,6 g, 12,8 mmol) y trietilamina (2 ml, 14 mmol) se disolvieron en 50 ml de etanol. Después de calentar y agitar durante 4 h la solución de reacción a 70°C, se terminó la reacción. La solución se evaporó hasta sequedad y luego se lavó con éter dietílico. El intermedio objetivo se obtuvo por filtración. CL-EM (m/z) 351 (M+1).

Ejemplo 7

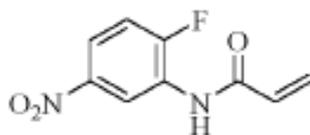
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida



10 El sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (3,1 g, rendimiento de 60,0 %) se preparó como sigue. N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida (4,0 g, 11,4 mmol), N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (2,7 g, 13,9 mmol) y ácido trifluoroacético (1 ml, 7 mmol) se disolvieron en 60 ml de isopropanol. Después de calentar la solución de reacción a 90°C y agitar durante 24 h, se terminó la reacción. La solución de reacción se vertió en solución acuosa de NaHCO₃ para precipitar el sólido. La mezcla se dejó asentarse y luego se filtró. El producto bruto se disolvió en acetato de etilo y se sometió a ultrasonido. Después de la filtración, se obtuvo el compuesto objetivo. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,83 (m, 2H, CH₂), 3,10-3,12 (m, 2H, CH₂), 3,32 (s, 3H, CH₃), 3,44-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,4 Hz, 1H, CH), 6,02-6,08 (m, 1H, CH), 6,18 (d, J = 16,0 Hz, 1H, CH), 7,21-7,23 (m, 1H, Ar-H), 7,26-7,27 (m, 1H, Ar-H), 7,64 (s, 1H, pirimidina-NH), 7,91 (s, 1H, Ar-H), 7,93 (s, 1H, pirimidina-H), 7,95-7,96 (m, 2H, Ar-H), 7,97-7,98 (m, 2H, Ar-H), 8,72 (s, 1H, NH), 9,43 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 508 (M+1).

Ejemplo 8

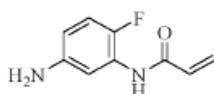
Preparación de N-(2-fluoro-5-nitrofenil) acrilamida



25 Se preparó un sólido amarillo de N-(2-fluoro-5-nitrofenil) acrilamida (0,3 g, rendimiento del 71,4%) a partir de 2-fluoro-5-nitroanilina (0,3 g, 2,0 mmol) y cloruro de acrililo (0,27 g, 3 mmol) según etapas similares del ejemplo 2. CL-EM (m/z) 211 (M+1).

Ejemplo 9

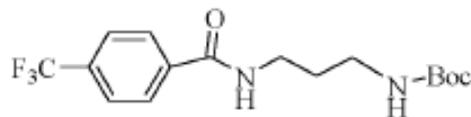
Preparación de N-(5-amino-2-fluorofenil) acrilamida



30 Se preparó un sólido marrón de N-(5-amino-2-fluorofenil) acrilamida (0,1 g, rendimiento del 46,7%) a partir de N-(2-fluoro-5-nitrofenil) acrilamida (0,125 g, 4,7 mmol) según etapas similares del ejemplo 3. CL-EM (m/z) 181 (M+1).

Ejemplo 10

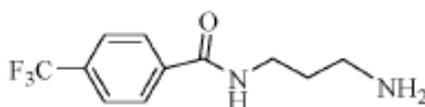
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico



- 5 Se preparó un sólido blanco de éster t-butílico del ácido 3-(4-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico (0,22 g, rendimiento del 90%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (0,4 g, 2,4 mmol) y ácido 4-trifluorometil benzoico (0,38 g, 2 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 347 (M+1).

Ejemplo 11

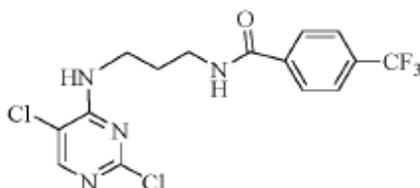
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-trifluorometilbenzamida



- 10 Se preparó un líquido amarillo de N-(3-aminopropil)-4-trifluorometilbenzamida (1,1 g, rendimiento del 53%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico (2,8 g, 8 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 247 (M+1).

Ejemplo 12

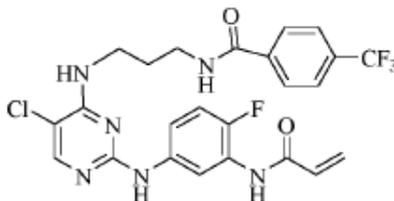
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida



- 15 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (1,9 g, rendimiento del 57%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (1,46 g, 8 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-trifluorometil benzamida (1,9 g, 8 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 393 (M+1).

Ejemplo 13

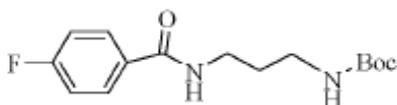
- 20 Preparación de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida



- 25 Se preparó un sólido gris de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (18 mg, rendimiento del 33%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (39 mg, 0,1 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil) acrilamida (20 mg, 0,11 mmol) según etapas similares del ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,85-1,88 (m, 2H, CH₂), 3,32-3,37 (m, 2H, CH₂), 3,55-3,58 (m, 2H, CH₂), 5,76-5,79 (m, 1H, CH), 6,27-6,32 (m, 1H, CH), 6,61-6,68 (m, 1H, CH), 7,21 (t, J = 10,04 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,36-7,40 (m, 1H, Ar-H), 7,82 (d, J = 8,16 Hz, 2H, Ar-H), 8,02 (d, J = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 8,16 (s, 1H, pirimidina-H), 8,28 (s, 1H, Ar-H), 8,37-8,38 (m, 1H, NH), 8,73-8,76 (m, 1H, NH), 9,99 (s, 1H, anillo de benceno-NH), 10,28 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 537 (M+1).

Ejemplo 14

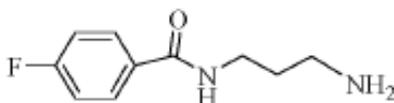
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-fluorobenzamino) propilamino fórmico



Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-fluorobenzamino) propilaminofórmico (800 mg, rendimiento del 94,1%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y ácido 4-fluorobenzoico (400 mg, 2,86 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 297 (M+1).

5 Ejemplo 15

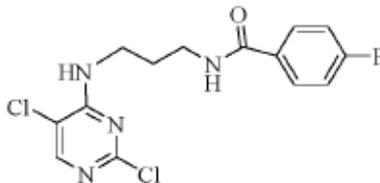
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-fluorobenzamida



10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-fluorobenzamida (400 mg, rendimiento del 75,2%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-fluorobenzamino) propilamino fórmico (800 mg, 2,70 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 197 (M+1).

Ejemplo 16

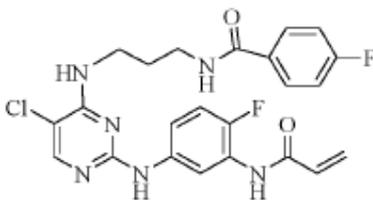
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida



15 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (440 mg, rendimiento del 63,2%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (400 mg, 2,19 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-fluorobenzamida (400 mg, 2,03 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 343 (M+1).

Ejemplo 17

Preparación de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida

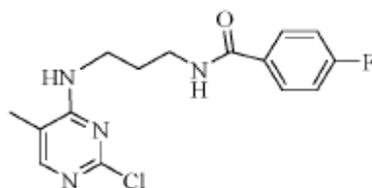


20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (8 mg, rendimiento del 9,41%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (60 mg, 0,17 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil) acrilamida (40 mg, 0,22 mmol) a base de los pasos similares según el ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,79-1,83 (m, 2H, CH₂), 3,31-3,33 (m, 2H, CH₂), 3,49-3,51 (m, 2H, CH₂), 5,75 (d, J = 11,2 Hz, 1H, CH), 6,26 (d, J = 16,99 Hz, 1H, CH), 6,55-6,62 (m, 1H, CH), 7,11 (t, J = 9,92 Hz, 1H, Ar-H), 7,22 (t, J = 5,66 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,28 (t, J = 8,73 Hz, 2H, Ar-H), 7,47 (t, J = 4,93 Hz, 1H, Ar-H), 7,88-7,93 (m, 3H, Ar-H, pirimidina-H), 8,31 (d, J = 5,12 Hz, 1H, Ar-H), 8,50-8,52 (m, 1H, NH), 9,26 (s, 1H, anillo de benceno -NH), 9,85 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 487 (M+1).

25

Ejemplo 18

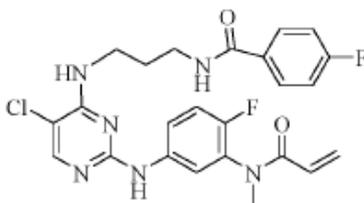
Preparación de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida



5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (40 mg, rendimiento del 52,3%) a partir de 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (40 mg, 0,25 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-fluorobenzamida (40 mg, 0,20 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 323 (M+1).

Ejemplo 19

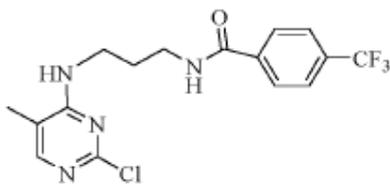
Preparación de 4-fluoro-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil) benzamida



10 El sólido blanco de 4-fluoro-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil) benzamida (5 mg, rendimiento del 8,68%) se preparó a partir de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (40 mg, 0,12 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (40 mg, 0,21 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,83 (m, 2H, CH₂), 1,92 (s, 3H, CH₃), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,30-3,32 (m, 2H, CH₂), 3,42-3,44 (m, 2H, CH₂), 5,58-5,61 (m, 1H, CH), 6,04-6,11 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 6,72 (t, J = 5,17 Hz, 1H, Ar-H), 7,21 (t, J = 9,44 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,28 (t, J = 8,8 Hz, 2H, Ar-H), 7,66-7,68 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-H), 7,88-7,92 (m, 2H, Ar-H), 7,98-7,99 (m, 1H, Ar-H), 8,51 (t, J = 5,26 Hz, 1H, NH), 9,09 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 481 (M+1).

Ejemplo 20

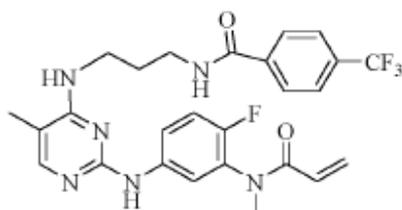
Preparación de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida



20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometil benzamida (0,26 g, rendimiento del 72%) a partir de 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (0,16 g, 1 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-trifluorometilbenzamida (0,24 g, 1 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 373 (M+1).

25 Ejemplo 21

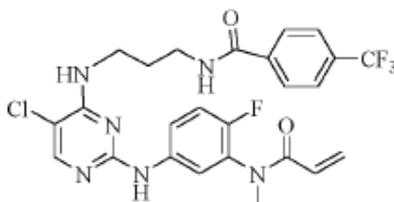
Preparación de N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida



- 5 El sólido blanco de N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (0,26 g, rendimiento del 72%) fue preparado a partir de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (75 mg, 0,2 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (70 mg, 0,3 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,87 (m, 2H, CH₂), 1,93 (s, 3H, CH₃), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,36-3,38 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,58-5,61 (m, 1H, CH), 6,04-6,11 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 6,73 (t, J = 5,64 Hz, 1H, Ar-H), 7,21 (t, J = 9,4 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,66-7,68 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-H), 7,84 (d, J = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 7,98-8,00 (m, 1H, Ar-H), 8,03 (d, J = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 8,71-9,74 (m, 1H, NH), 9,10 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 531 (M+1).

Ejemplo 22

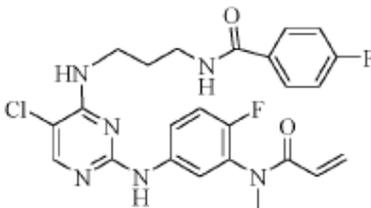
- 10 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida



- 15 El sólido gris de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (0,23 g, rendimiento del 42%) se preparó a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-trifluorometilbenzamida (0,39 g, 1 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (0,28 g, 1,5 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,84 (m, 2H, CH₂), 3,31-3,33 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 9,6 Hz, 1H, CH), 6,02-6,08 (m, 1H, CH), 6,18 (d, J = 15,1 Hz, 1H, CH), 7,25-7,29 (m, 1H, Ar-H), 7,61-7,67 (m, 3H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,82-7,84 (m, 3H, Ar-H, pirimidina-H), 8,00-8,03 (m, 3H, Ar-H, NH), 8,71 (s, 1H, anillo de benceno-NH), 9,71 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 551 (M+1).

20 Ejemplo 23

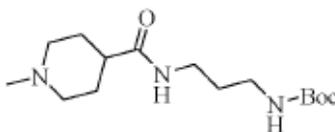
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida



- 25 El sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (117 mg, rendimiento del 40,3%) se preparó a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-fluorobenzamida (200 mg, 0,58 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (150 mg, 0,77 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,78-1,81 (m, 2H, CH₂), 3,28-3,29 (m, 2H, CH₂), 3,32 (s, 3H, CH₃), 3,43-3,45 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,05-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,22-7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,64-7,66 (m, 1H, pirimidina-NH), 7,87-7,91 (m, 3H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,50 (t, J = 5,2 Hz, 1H, NH), 9,43 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 501 (M+1).

30 Ejemplo 24

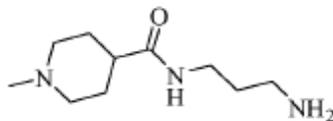
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(1-metilpiperidinil-4-formamino) propilamino fórmico



- 35 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(1-metilpiperidinil-4-formamino) propilamino fórmico (220 mg, rendimiento del 25,6%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y ácido 1-metilpiperidinil-4-carboxílico (410 mg, 2,87 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 300 (M+1).

Ejemplo 25

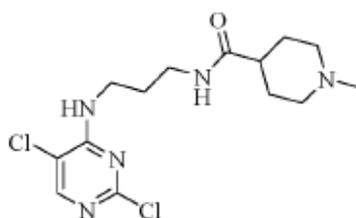
Preparación de N-(3-aminopropil)-N-metilpiperidinil-4-formamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-1-metilpiperidinil-4-formamida (130 mg, rendimiento del 80,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(1-metilpiperidinil-4-formamino) propilamino fórmico (220 mg, 0,74 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 200 (M+1).

Ejemplo 26

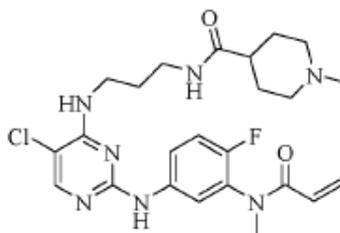
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida (200 mg, rendimiento del 79,6%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (130 mg, 0,71 mmol) y N-(3-aminopropil)-1-metilpiperidinil-4-formamida (130 mg, 0,65 mmol) basado en los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 346 (M+1).

Ejemplo 27

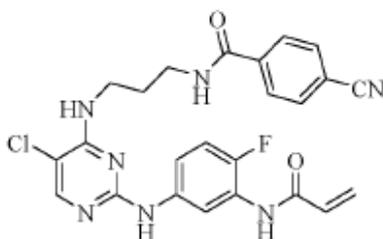
- 15 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida



- 20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida (12 mg, rendimiento del 11,6%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida (80 mg, 0,23 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (40 mg, 0,20 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,52-1,58 (m, 4H, 2 × CH₂), 1,74-1,79 (m, 2H, CH₂), 1,96-1,99 (m, 1H, CH), 2,11 (s, 3H, CH₃), 3,05-3,12 (m, 4H, 2 × CH₂), 3,13-3,16 (m, 4H, 2 × CH₂), 3,18 (s, 3H, CH₃), 5,60 (d, J = 9,7 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,21 (m, 1H, CH), 7,25-7,30 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,64-7,69 (m, 1H, Ar-H), 7,76 (t, J = 5,45 Hz, 1H, NH), 7,84-7,88 (m, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 9,43 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 504 (M+1).

Ejemplo 28

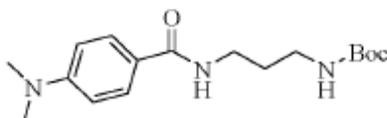
Preparación de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluorofenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida



- 5 Se preparó un sólido negro de N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluorofenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano benzamida (20 mg, rendimiento del 40%) a partir de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida (35 mg, 0,1 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil) acrilamida (22 mg, 0,12 mmol) según pasos similares según el ejemplo 7. $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6) δ 1,81-1,87 (m, 2H, CH₂), 3,30-3,34 (m, 2H, CH₂), 3,52-3,57 (m, 2H, CH₂), 5,75-5,78 (m, 1H, CH), 6,25-6,30 (m, 1H, CH), 6,59-6,66 (m, 1H, CH), 7,19 (t, J = 10,48 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,36-7,40 (m, 1H, Ar-H), 7,92-7,97 (m, 4H, Ar-H), 8,11 (s, 1H, pirimidina-H), 8,34 (d, J = 4,6 Hz, 1H, Ar-H), 8,73 (t, J = 5,44 Hz, 1H, NH), 9,95 (s, 1H, anillo de benceno-NH), 10,05 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 494 (M+1).

Ejemplo 29

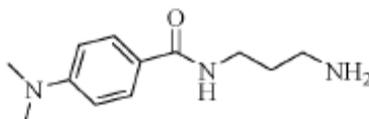
- 10 Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-dimetilaminobenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-dimetilaminobenzamino) propilamino fórmico (840 mg, rendimiento del 91,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y ácido 4-dimetilaminobenzoico (475 mg, 2,87 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 322 (M+1).

Ejemplo 30

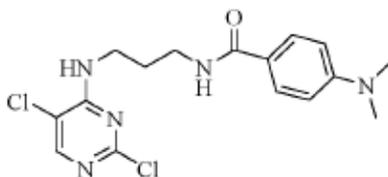
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-dimetilaminobenzamida



- 20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-dimetilaminobenzamida (500 mg, rendimiento del 86,5%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-dimetilaminobenzamino) propilamino fórmico (840 mg, 2,62 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 222 (M+1).

Ejemplo 31

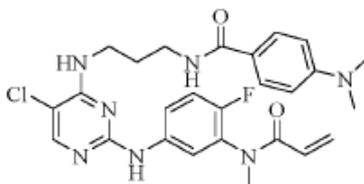
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-dimetilaminobenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-dimetilamino benzamida (700 mg, rendimiento del 84,3%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (550 mg, 3,00 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-dimetilaminobenzamida (500 mg, 2,26 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 368 (M+1).

Ejemplo 32

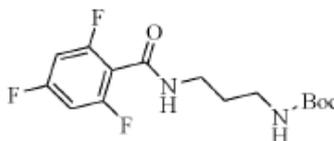
- 30 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-dimetilaminobenzamida



5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-dimetilamino benzamida (49 mg, rendimiento del 58,3%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-dimetilaminobenzamida (50 mg, 0,14 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (30 mg, 0,15 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,74-1,78 (m, 2H, CH₂), 2,95 (s, 6H, 2 × CH₃), 3,25-3,60 (m, 2H, CH₂), 3,32 (s, 3H, CH₃), 3,41-3,43 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,20 (m, 1H, CH), 6,68 (d, J = 9,8 Hz, 2H, Ar-H), 7,22-7,27 (m, 1H, Ar-H), 7,31-7,34 (m, 1H, Ar-H), 7,64-7,67 (m, 1H, pirimidina-NH), 7,70 (d, J = 8,7 Hz, 2H, Ar-H), 7,89-7,90 (m, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,14 (t, J = 5,6 Hz, 1H, NH), 9,43 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 526 (M+1).

10 Ejemplo 33

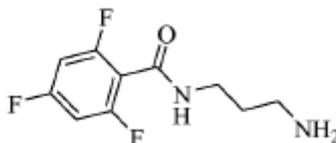
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(2,4,6-trifluorobenzamino) propilamino fórmico



15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butílico del ácido 3-(2,4,6-trifluorobenzamino) propilamino fórmico (200 mg, rendimiento del 60,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (174 mg, 1,0 mmol) y ácido 2,4,6-trifluorobenzoico (176 mg, 1,0 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 333 (M+1).

Ejemplo 34

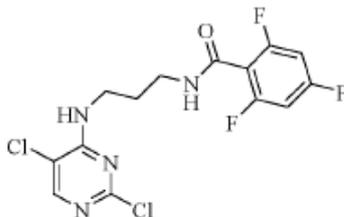
Preparación de N-(3-aminopropil)-2,4,6-trifluorobenzamida



20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-2,4,6-trifluorobenzamida (100 mg, rendimiento del 43,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(2,4,6-trifluorobenzamino) propilamino fórmico (200 mg, 0,6 mmol) según etapas similares del Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 233 (M+1).

Ejemplo 35

Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6-trifluorobenzamida

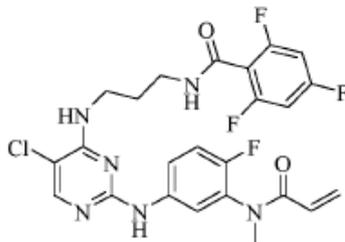


25 Se preparó un sólido amarillo de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6-trifluorobenzamida (120 mg, rendimiento del 73,6%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (100 mg, 0,55 mmol) y N-(3-aminopropil)-2,4,6-trifluorobenzamida (100 mg, 0,43 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 379 (M+1).

30

Ejemplo 36

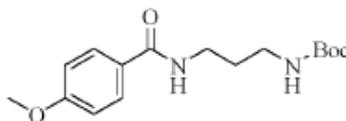
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6-trifluorobenzamida



- 5 Se preparó un sólido amarillo de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6-trifluorobenzamida (80 mg, rendimiento del 58,3%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,4,6-trifluorobenzamida (120 mg, 0,32 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (110 mg, 0,56 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,75-1,82 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,25-3,31 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,45 (m, 2H, CH₂), 5,61 (d, J = 9,5 Hz, 1H, CH), 6,04-6,11 (m, 1H, CH), 6,16-6,22 (m, 1H, CH), 7,22-7,28 (m, 4H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,67-7,69 (m, 1H, Ar-H), 7,87 (d, J = 5,2 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,71 (t, J = 5,4 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 537 (M+1).

Ejemplo 37

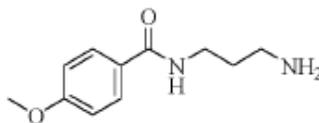
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-metoxibenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-metoxibenzamino) propilamino fórmico (800 mg, rendimiento del 90,4%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y ácido 4-metoxibenzoico (437 mg, 2,87 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 309 (M+1).

Ejemplo 38

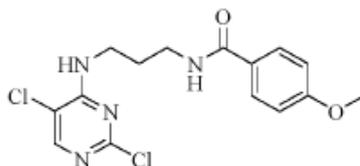
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-4-metoxilbenzamida



Se preparó un sólido blanco del N-(3-aminopropil)-4-metoxilbenzamida (500 mg, rendimiento del 92,6%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-metoxilbenzamino) propilamino fórmico (800 mg, 2,60 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 209 (M+1).

Ejemplo 39

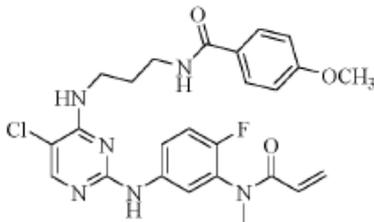
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxilbenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxil benzamida (600 mg, rendimiento del 70,3%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (690 mg, 3,74 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-metoxilbenzamida (500 mg, 2,40 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 355 (M+1).

Ejemplo 40

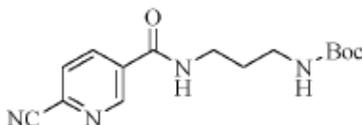
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxilbenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxilbenzamida (10 mg, rendimiento del 13,9%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metoxilbenzamida (50 mg, 0,14 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (30 mg, 0,15 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,77-1,80 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,28-3,31 (m, 2H, CH₂), 3,43-3,45 (m, 2H, CH₂), 3,80 (s, 3H, CH₃), 5,59 (d, J = 9,5 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 6,97 (d, J = 8,7 Hz, 2H, Ar-H), 7,21-7,27 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,81 (d, J = 8,7 Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d, J = 6,4 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,31 (t, J = 5,2 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 513 (M+1).

Ejemplo 41

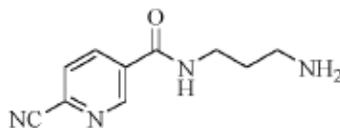
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(2-ciano-nicotinamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butílico del ácido 3-(2-ciano-nicotinamino) propilamino fórmico (400 mg, rendimiento del 91,3%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (250 mg, 1,44 mmol) y ácido 6-ciano-nicotínico (212 mg, 1,44 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 305 (M+1).

Ejemplo 42

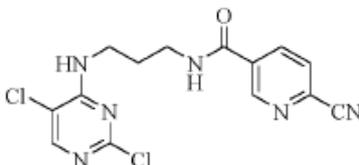
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-6-ciano-nicotinamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-6-ciano-nicotinamida (240 mg, rendimiento del 89,6%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(2-ciano-nicotinamino) propilamino fórmico (400 mg, 1,32 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 205 (M+1).

Ejemplo 43

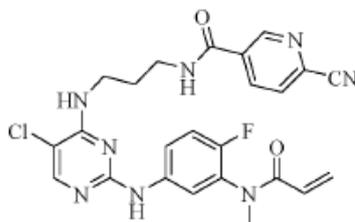
Preparación de 6-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) nicotinamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de 6-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) nicotinamida (80 mg, rendimiento del 19,3%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (280 mg, 1,53 mmol) y N-(3-aminopropil)-6-ciano-nicotinamida (240 mg, 1,18 mmol) en base a los pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 351 (M+1).

Ejemplo 44

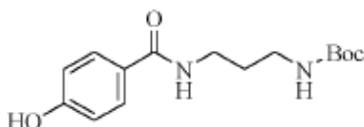
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-6-cianonicotinamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-6-ciano-nicotinamida (15 mg, rendimiento de 17,4 %) a partir de 6-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) nicotinamida (60 mg, 0,17 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (46 mg, 0,24 mmol) basada en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,88 (m, 2H, CH₂), 3,21 (s, 3H, CH₃), 3,32-3,36 (m, 2H, CH₂), 3,46-3,51 (m, 2H, CH₂), 5,61 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,04-6,1 (m, 1H, CH), 6,17-6,22 (m, 1H, CH), 7,29 (t, J = 9,3 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,61-7,62 (m, 1H, Ar-H), 7,78 (s, 1H, Ar-H), 7,83 (d, J = 5,3 Hz, 1H, Ar-H), 8,06 (s, 1H, pirimidina-H), 8,17 (d, J = 7,4 Hz, 1H, Ar-H), 8,36-8,41 (m, 1H, Ar-H), 8,89 (t, J = 5,4 Hz, 1H, NH), 9,09 (s, 1H, Ar-H), 9,85 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 509 (M+1).

Ejemplo 45

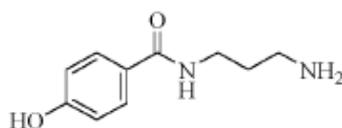
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-hidroxibenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-hidroxibenzamino) propilamino fórmico (600 mg, rendimiento del 71,1%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropil t-butilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y ácido 4-hidroxibenzoico (440 mg, 2,87 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 295 (M+1).

Ejemplo 46

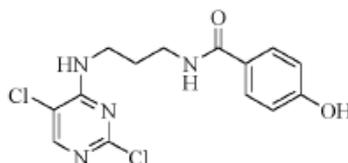
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-4-hidroxibenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-hidroxibenzamida (300 mg, rendimiento del 75,8%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-hidroxibenzamino) propilamino fórmico (600 mg, 2,04 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 195 (M+1).

Ejemplo 47

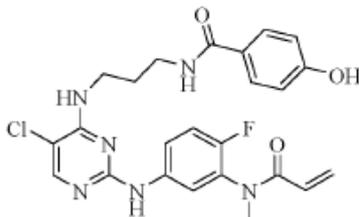
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida (200 mg, rendimiento del 84,3%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (300 mg, 1,64 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-hidroxibenzamida (300 mg, 1,54 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 341 (M+1).

Ejemplo 48

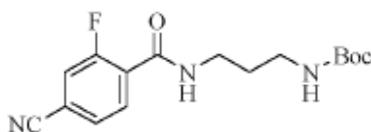
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida (3 mg, rendimiento del 1,3%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida (200 mg, 0,47 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (100 mg, 0,52 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,75-1,81 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,27-3,29 (m, 2H, CH₂), 3,42-3,44 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,4 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,20 (m, 1H, CH), 6,78 (d, J = 7,9 Hz, 2H, Ar-H), 7,24-7,27 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,67-7,69 (m, 1H, Ar-H), 7,70 (d, J = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 7,88-7,90 (m, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,20 (s, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH), 9,89 (s, 1H, OH). CL-EM (m/z) 499 (M+1).

Ejemplo 49

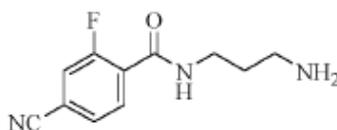
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-2-fluorobenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-2-fluorobenzamino) propilamino fórmico (450 mg, rendimiento del 70,1%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (348 mg, 2,0 mmol) y ácido 4-ciano-2-fluorobenzoico (330 mg, 2,0 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 322 (M+1).

Ejemplo 50

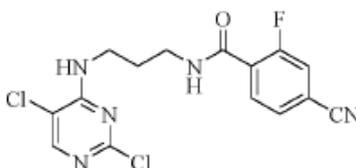
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-4-ciano-2-fluorobenzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-ciano-2-fluorobenzamida (278 mg, rendimiento del 90,0%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-2-fluorobenzamino) propilamino fórmico (450 mg, 1,4 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 222 (M+1).

Ejemplo 51

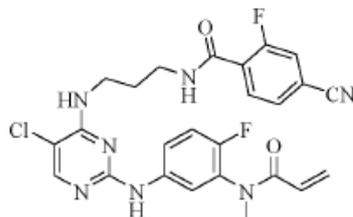
Preparación de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2-fluorobenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2-fluorobenzamida (312 mg, rendimiento del 67,4%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (238 mg, 1,3 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-ciano-2-fluorobenzamida (278 mg, 1,26 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 368 (M+1).

Ejemplo 52

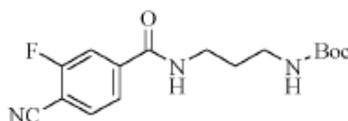
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-2-fluorobenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-2-fluorobenzamida (106 mg, rendimiento del 49,3%) a partir de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2-fluorobenzamida (150 mg, 0,41 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (87 mg, 0,45 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,83 (m, 2H, CH₂), 3,20 (s, 3H, CH₃), 3,30-3,31 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂), 5,61 (d, J = 9,7 Hz, 1H, CH), 6,04-6,10 (m, 1H, CH), 6,15-6,21 (m, 1H, CH), 7,20-7,25 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,62-7,65 (m, 1H, Ar-H), 7,75-7,76 (m, 2H, Ar-H), 7,88-7,94 (m, 2H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,57 (s, 1H, NH), 9,41 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 526 (M+1).

Ejemplo 53

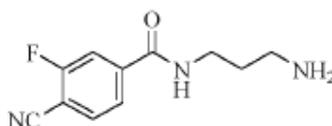
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-ciano-3-fluorobenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco de éster t-butílico del ácido 3-(4-ciano-3-fluorobenzamino) propilamino fórmico (462 mg, rendimiento del 71,9%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropil t-butilamino fórmico (348 mg, 2,0 mmol) y ácido 4-ciano-3-fluorobenzoico (330 mg, 2,0 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 322 (M+1).

Ejemplo 54

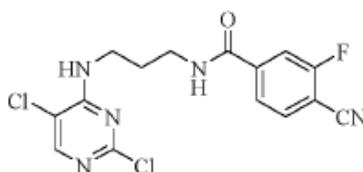
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-ciano-3-fluorobenzamida



- 20 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-ciano-3-fluorobenzamida (275 mg, rendimiento del 86,5%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-ciano-3-fluorobenzamino) propilamino fórmico (462 mg, 1,44 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 222 (M+1).

Ejemplo 55

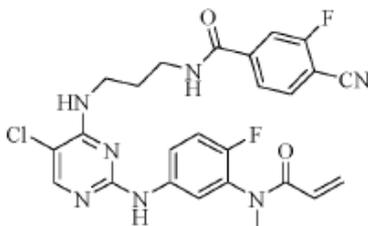
- 25 Preparación de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluorobenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluorobenzamida (340 mg, rendimiento del 74,6%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (229 mg, 1,25 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-ciano-3-fluorobenzamida (275 mg, 1,24 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 368 (M+1).

Ejemplo 56

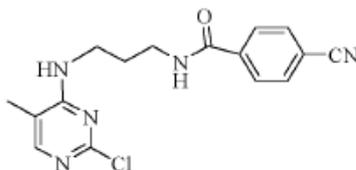
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-3-fluorobenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-3-fluorobenzamida (98 mg, rendimiento del 45,6%) a partir de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluorobenzamida (150 mg, 0,41 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (87 mg, 0,45 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,84 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,33-3,35 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,7 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,21-6,20 (m, 1H, CH), 7,21-7,25 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,63-7,65 (m, 1H, Ar-H), 7,81-7,89 (m, 2H, Ar-H), 7,95 (s, 1H, pirimidina-H), 8,04-8,12 (m, 2H, Ar-H), 8,76 (t, J = 5,6 Hz, 1H, NH), 9,45 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 526 (M+1).

Ejemplo 57

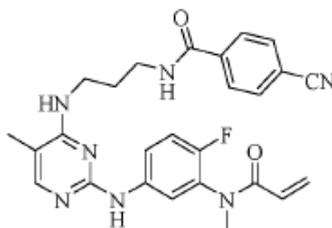
Preparación de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-cianobenzamida



- 15 Se preparó un sólido amarillo de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (100 mg, rendimiento del 60,6%) a partir de 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (82 mg, 0,5 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida (100 mg, 0,5 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 330 (M+1).

Ejemplo 58

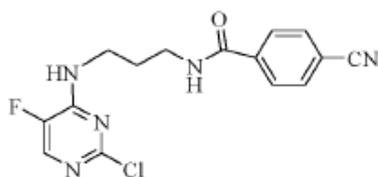
- 20 Preparación de 4-ciano-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-benzamida



- 25 Se preparó un sólido negro de 4-ciano-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-benzamida (10 mg, rendimiento del 3,3%) a partir de N-(3-(2-cloro-5-metilpirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (100 mg, 0,61 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (128 mg, 0,66 mmol) basada en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,82-1,85 (m, 2H, CH₂), 1,92 (s, 3H, CH₃), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,35-3,37 (m, 2H, CH₂), 3,43-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,04-6,1 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 6,68 (t, J = 5,5 Hz, 1H, Ar-H), 7,19 (t, J = 9,5 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 2H, Ar-H), 7,93-7,99 (m, 5H, Ar-H, pirimidina-H), 8,69 (t, J = 5,5 Hz, 1H, NH), 9,04 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 488 (M+1).

Ejemplo 59

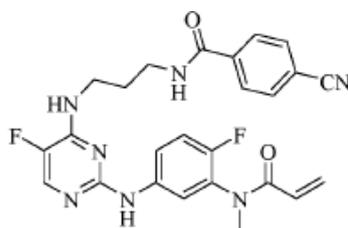
- 30 Preparación de N-(3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida



Se preparó un sólido amarillo de N-(3-(2-cloro-5-fluoro-pirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (100 mg, rendimiento del 60,0%) a partir de 2,4-dicloro-5-fluoro-pirimidina (83 mg, 0,5 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-ciano-benzamida (100 mg, 0,5 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 334 (M+1).

5 Ejemplo 60

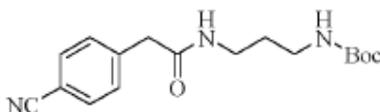
Preparación de 4-ciano-N-(3-(5-fluoro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida



10 Se preparó un sólido gris de 4-ciano-N-(3-(5-fluoro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida (49 mg, rendimiento del 58,3%) a partir de N-(3-(2-cloro-5-fluoropirimidinil-4-amino) propil)-4-ciano-benzamida (100 mg, 0,30 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (110 mg, 0,56 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,84-1,85 (m, 2H, CH₂), 3,18 (s, 3H, CH₃), 3,33-3,35 (m, 2H, CH₂), 3,42-3,43 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 8,6 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,20 (t, J = 9,1 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,47-7,49 (m, 1H, Ar-H), 7,63-7,64 (m, 1H, Ar-H), 7,88-7,89 (m, 2H, Ar-H), 7,92-7,96 (m, 4H, pirimidina-H, Ar-H), 8,68 (s, 1H, NH), 9,23 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 492 (M+1).

Ejemplo 61

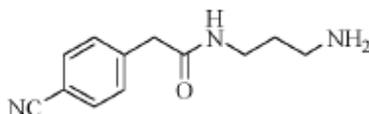
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(2-(4-cianofenil) acetamino) propilamino fórmico



20 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(2-(4-cianofenil) acetamino) propilamino fórmico (511 mg, rendimiento del 80,6%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (348 mg, 2,0 mmol) y ácido 2-(4-ciano-fenil) acético (322 mg, 2,0 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 318 (M+1).

Ejemplo 62

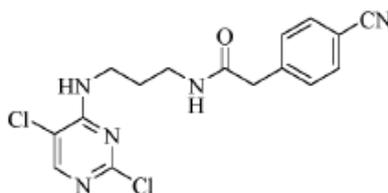
25 Preparación de N-(3-aminopropil)-2-(4-cianofenil) acetamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-2-(4-cianofenil) acetamida (312 mg, rendimiento del 89,4%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(2-(4-cianofenil) acetamino) propilamino fórmico (511 mg, 1,61 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 218 (M+1).

30 Ejemplo 63

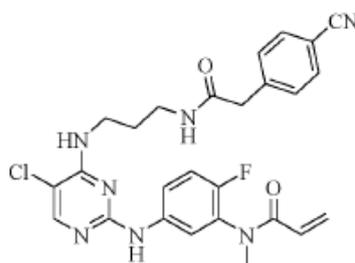
Preparación de 2-(4-cianofenil)-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) acetamida



Se preparó un sólido blanco de 2-(4-cianofenil)-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) acetamida (360 mg, rendimiento del 68,9%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (265 mg, 1,45 mmol) y N-(3-aminopropil)-2-(4-cianofenil) acetamida (312 mg, 1,44 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 364 (M+1).

5 Ejemplo 64

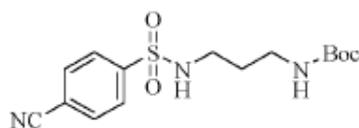
Preparación de N-(5-(5-cloro-4-(3-(2-(4-cianofenil) acetamino) propilamino) pirimidinil-2-amino)-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(5-(5-cloro-4-(3-(2-(4-cianofenil) acetamino) propilamino) pirimidinil-2-amino)-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (113 mg, rendimiento del 53,1%) a partir de 2-(4-cianofenil)-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) acetamida (150 mg, 0,41 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (87 mg, 0,45 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,67-1,72 (m, 2H, CH₂), 3,08-3,11 (m, 2H, CH₂), 3,18 (s, 3H, CH₃), 3,37-3,38 (m, 2H, CH₂), 3,52 (s, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 10,2 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,19-7,22 (m, 1H, Ar-H), 7,26 (t, J = 9,3 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,44 (d, J = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 7,64-7,66 (m, 1H, Ar-H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 2H, Ar-H), 7,88-7,89 (m, 1H, Ar-H), 7,95 (s, 1H, pirimidina-H), 8,13 (t, J = 5,6 Hz, 1H, NH), 9,39 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 522 (M+1).

Ejemplo 65

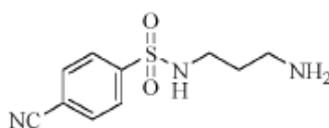
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-fenilsulfonamino) propilamino fórmico



- 20 El sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-fenilsulfonamino) propilamino-fórmico (0,25 g, rendimiento del 73,7%) se preparó como sigue. Se disolvieron cloruro de 4-cianobencenosulfonilo (0,2 g, 1,0 mmol) y N-Boc-1,3-propano diamina (0,18 g, 1,03 mmol) en 5 ml de THF y se agitó a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió DIPEA (0,26 g, 2,0 mmol) y se hizo reaccionar durante 4 h. La reacción se controló por LC-MS. Después de la reacción, se añadió una solución acuosa saturada de NaHCO₃, y la mezcla se agitó para precipitar el sólido. El intermedio objetivo se obtuvo por filtración. CL-EM (m/z) 340 (M+1).

Ejemplo 66

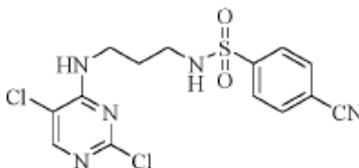
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-ciano-fenilsulfonamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-ciano-fenilsulfonamida (150 mg, rendimiento del 85,2%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-ciano-fenilsulfonamino) propilamino fórmico (250 mg, 0,74 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 240 (M+1).

Ejemplo 67

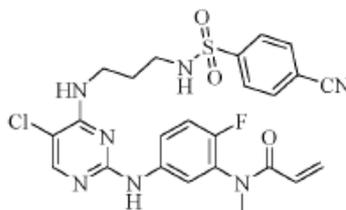
Preparación de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) fenilsulfonamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) fenilsulfonamida (150 mg, rendimiento del 61,9%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (128 mg, 0,7 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-ciano-fenilsulfonamida (150 mg, 0,63 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 386 (M+1).

Ejemplo 68

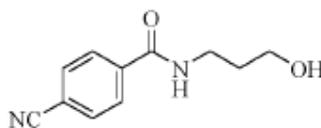
Preparación de 4-ciano-N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) bencenosulfonamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(5-(5-cloro-4-(3-(4-ciano-fenilsulfonamino) propilamino) pirimidinil-2-amino)-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (35 mg, rendimiento del 30,7%) a partir de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) fenilsulfonamida (80 mg, 0,21 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (43 mg, 0,22 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,63-1,70 (m, 2H, CH₂), 2,80-2,85 (m, 2H, CH₂), 3,17 (s, 3H, CH₃), 3,34-3,35 (m, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 10,3 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,13-7,16 (m, 1H, Ar-H), 7,25 (t, J = 9,4 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,81-7,82 (m, 1H, Ar-H), 7,88 (t, J = 5,9 Hz, 1H, NH), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H, Ar-H), 7,94 (s, 1H, pirimidina-H), 8,03 (d, J = 8,4 Hz, 2H, Ar-H), 9,38 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 544 (M+1).

Ejemplo 69

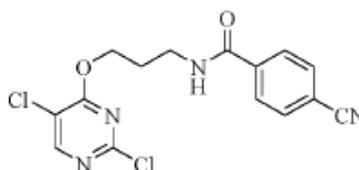
- 20 Preparación de 4-ciano-N-(3-hidroxipropil) benzamida



Se preparó un líquido amarillo de 4-ciano-N-(3-hidroxipropil) benzamida (400 mg, rendimiento del 99%) a partir de 3-amino-1-propanol (150 mg, 2 mmol) y ácido 4-cianobenzoico (294 mg, 2 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 205 (M+1).

Ejemplo 70

Preparación de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-oxo) propil) benzamida

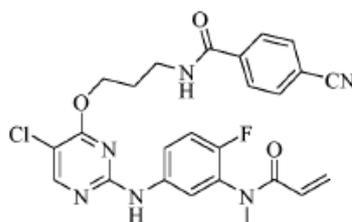


- 30 El sólido amarillo de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-oxo) propil) benzamida (120 mg, rendimiento del 17%) se preparó como sigue. Se disolvió 4-ciano-N-(3-hidroxipropil) benzamida (408 mg, 2 mmol) en 3 ml de DMF y se agitó en un baño de hielo. Después de 10 minutos, se añadió NaH (48 mg, 2 mmol) y la mezcla se mantuvo en agitación.

10 minutos después, se añadió 2,4,5-tricloropirimidina (366 mg, 2 mmol), y la mezcla se sacó del baño de hielo y se hizo reaccionar a temperatura ambiente. La reacción se controló por LC-MS. Después de la reacción, la mezcla se vertió en 200 ml de salmuera para precipitar una sustancia viscosa amarilla. La capa de agua se decantó y se añadieron 200 ml de PE. Posteriormente, la mezcla se sometió a ultrasonido. El intermedio objetivo se obtuvo por filtración. CL-EM (m/z) 351 (M+1).

Ejemplo 71

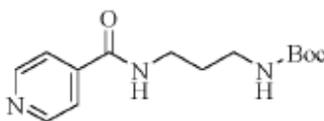
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-oxo) propil)-4-ciano-benzamida



10 Se preparó un sólido marrón de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-oxo) propil)-4-ciano-benzamida (20 mg, rendimiento de 20,0 %) a partir de 4-ciano-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-oxo) propil) benzamida (70 mg, 0,2 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (50 mg, 0,24 mmol) basada en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,98-2,06 (m, 2H, CH₂), 3,18 (s, 3H, CH₃), 3,40-3,47 (m, 2H, CH₂), 4,45-4,51 (m, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 9,5 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,28 (t, J = 9,4 Hz, 1H, pirimidina-NH), 7,64-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,78-7,80 (m, 1H, Ar-H), 7,93 (d, J = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 7,98 (d, J = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 8,32 (s, 1H, pirimidina-H), 8,77 (t, J = 5,3 Hz, 1H, NH), 9,85 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 509 (M+1).

Ejemplo 72

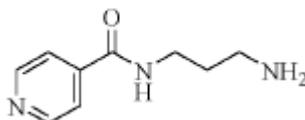
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(isonicotinamino) propilamino fórmico



20 Se preparó un sólido blanco de éster t-butílico del ácido 3-(isonicotinamino) propilamino fórmico (1,0 g, rendimiento del 78,0%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (800 mg, 4,60 mmol) y cloruro de isonicotinoilo (900 mg, 6,38 mmol) según etapas similares del Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 280 (M+1).

Ejemplo 73

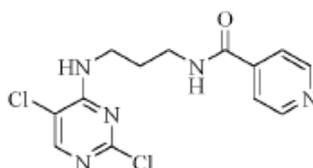
Preparación de N-(3-aminopropil)-isonicotinamida



25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-isonicotinamida (180 mg, rendimiento del 28,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(isonicotinamino) propilamino fórmico (1,0 g, 3,58 mmol) basado en pasos similares según al ejemplo 5. CL-EM (m/z) 180 (M+1).

Ejemplo 74

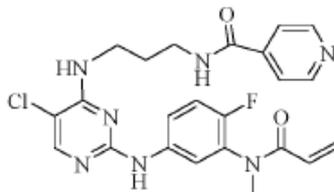
30 Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidin-4-amino) propil) isonicotinamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) isonicotinamida (120 mg, rendimiento del 32,8%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (276 mg, 1,51 mmol) y N-(3-aminopropil)-isonicotinamida (180 mg, 1,00 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 326 (M+1).

Ejemplo 75

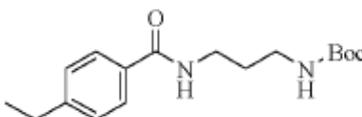
- 5 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) isonicotinamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) isonicotinamida (4,2 mg, rendimiento del 2,3%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) isonicotinamida (120 mg, 0,36 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (70 mg, 0,36 mmol) basados en pasos similares según el ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,84 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,26-3,33 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 10,1 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,23-7,27 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,64-7,66 (m, 1H, Ar-H), 7,72 (d, J = 5,6 Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d, J = 5,2 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 7,70 (d, J = 5,5 Hz, 2H, Ar-H), 8,73 (s, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 484 (M+1).

15 Ejemplo 76

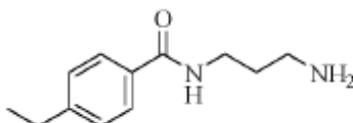
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(4-etilfenilformamino) propilamino fórmico



- 20 Se preparó un sólido blanco de carbamato de 3-(4-etilbenzamino) propil t-butilo (800 mg, rendimiento del 91,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropil t-butilamino fórmico (500 mg, 2,87 mmol) y cloruro de 4-etilbenzoilo (530 mg, 3,15 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 307 (M+1).

Ejemplo 77

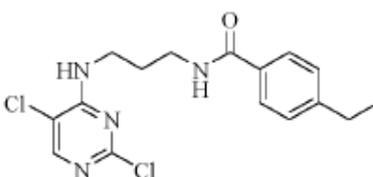
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-etilbenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-etilbenzamida (300 mg, rendimiento del 55,7%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(4-etilbenzamino) propilamino fórmico (800 mg, 2,61 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 207 (M+1).

Ejemplo 78

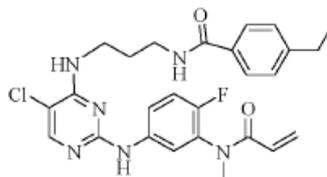
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-etil benzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-etilbenzamida (500 mg, rendimiento del 97,5%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (300 mg, 1,64 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-etilbenzamida (300 mg, 1,46 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 353 (M+1).

Ejemplo 79

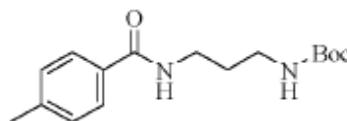
- 5 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-etilbenzamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-etilbenzamida (86 mg, rendimiento del 59,4%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-hidroxibenzamida (100 mg, 0,28 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (71 mg, 0,37 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,19 (t, J = 7,6 Hz, 3H, CH₃), 1,78-1,81 (m, 2H, CH₂), 2,62-2,67 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,30-3,33 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,45 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 10,1 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,22-7,29 (m, 4H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,76 (m, J = 8,0 Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d, J = 5,2 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,37 (t, J = 5,5 Hz, 1H, NH), 9,39 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 511 (M+1).

15 Ejemplo 80

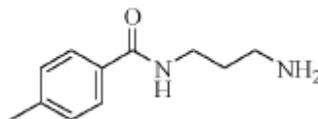
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-metilbenzamino) propilamino fórmico



- 20 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-metilbenzamino) propilamino fórmico (0,45 g, rendimiento del 79%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (0,3 g, 1,95 mmol) y cloruro de 4-metilbenzoilo (0,34 g, 1,95 mmol) según etapas similares del ejemplo 76. CL-EM (m/z) 293 (M+1).

Ejemplo 81

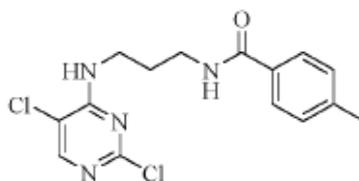
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-metilbenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-metilbenzamida (290 mg, rendimiento del 99%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-metilbenzamino) propilamino fórmico (450 mg, 1,54 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 193 (M+1).

Ejemplo 82

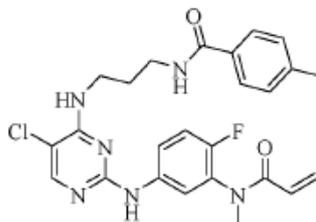
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metil benzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metilbenzamida (400 mg, rendimiento del 78,1%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (300 mg, 1,64 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-metilbenzamida (290 mg, 1,51 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 339 (M+1).

Ejemplo 83

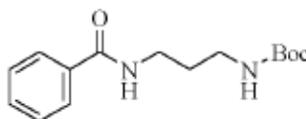
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metilbenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-metil benzamida (200 mg, rendimiento del 34,2%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-metilbenzamida (400 mg, 1,18 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (400 mg, 2,06 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,76-1,83 (m, 2H, CH₂), 2,34 (s, 3H, CH₃), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,29-3,33 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,45 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,7 Hz, 1H, CH), 6,03-6,10 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,22-7,26 (m, 4H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,74 (d, J = 8,0 Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d, J = 5,2 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,38 (t, J = 5,4 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 497 (M+1).

Ejemplo 84

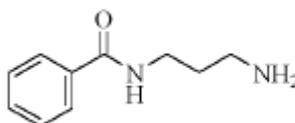
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-benzamidopropilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-benzamidopropilamino fórmico (700 mg, rendimiento del 88,3%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino formico (400 mg, 2,85 mmol) y cloruro de benzoilo (500 mg, 3,57 mmol) según etapas similares del Ejemplo 76, CL-EM (m/z) 279 (M+1).

Ejemplo 85

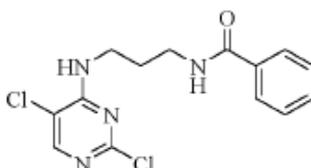
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil) benzamida



Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico de N-(3-aminopropil) benzamida (375 mg, rendimiento del 80,4%) a partir del ácido 3-benzamidopropilamino fórmico (700 mg, 2,62 mmol) según etapas similares del Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 179 (M+1).

Ejemplo 86

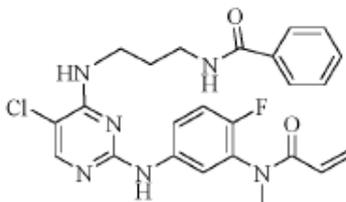
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidin-4-amino) propil) benzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida (556 mg, rendimiento del 81,7%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (550 mg, 3,00 mmol) y N-(3-aminopropil) benzamida (375 mg, 2,1 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 325 (M+1).

Ejemplo 87

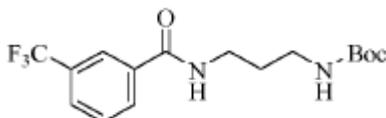
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida (245 mg, rendimiento del 42,8%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) benzamida (400 mg, 1,23 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (280 mg, 1,44 mmol) según etapas similares del ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,79-1,83 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,31-3,34 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,22-7,27 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,45 (d, J = 7,5 Hz, 2H, Ar-H), 7,52 (t, J = 7,1 Hz, 1H, Ar-H), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,83 (d, J = 5,2 Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d, J = 7,4 Hz, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,46 (t, J = 5,2 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 483 (M+1).

Ejemplo 88

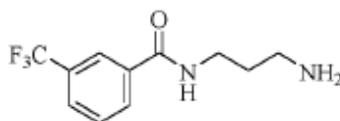
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(3-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco del éster t-butílico del ácido 3-(3-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico (640 mg, rendimiento del 79,7%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (400 mg, 2,32 mmol) y cloruro de 3- trifluorometil benzoilo (596 mg, 2,87 mmol) según etapas similares del ejemplo 76. CL-EM (m/z) 347 (M+1).

Ejemplo 89

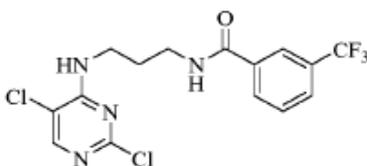
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-3-trifluorometilbenzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-3-trifluorometilbenzamida (300 mg, rendimiento del 66,0%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(3-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico (640 mg, 1,84 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 247 (M+1).

Ejemplo 90

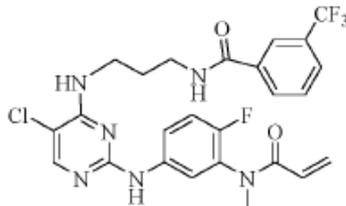
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometilbenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometil benzamida (480 mg, rendimiento del 93,2%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (360 mg, 2,21 mmol) y N-(3-aminopropil)-3-trifluorometilbenzamida (300 mg, 1,47 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 393 (M+1).

Ejemplo 91

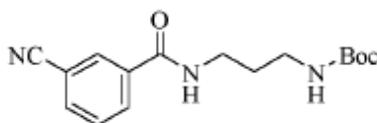
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometilbenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometilbenzamida (240 mg, rendimiento del 35,7%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-trifluorometilbenzamida (480 mg, 1,22 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (260 mg, 1,34 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,87 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,32-3,37 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,48 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,6 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,21-7,25 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,71 (t, J = 7,8 Hz, 1H, Ar-H), 7,88-7,90 (m, 2H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,14 (d, J = 7,9 Hz, 1H, Ar-H), 8,16 (s, 1H, Ar-H), 8,72 (t, J = 5,4 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 551 (M+1).

Ejemplo 92

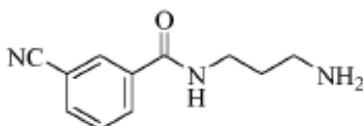
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(3-ciano-benzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco de éster t-butilico del ácido 3-(3-ciano-benzamino) propilamino fórmico (740 mg, rendimiento del 80,6%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (600 mg, 3,44 mmol) y cloruro de 3-ciano-benzoilo (500 mg, 3,02 mmol) según etapas similares del Ejemplo 76. CL-EM (m/z) 304 (M+1).

Ejemplo 93

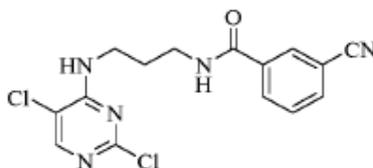
- 20 Preparación de N-(3-aminopropil)-3-cianobenzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-3-cianobenzamida (300 mg, rendimiento del 86,5%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(3-ciano-benzamino) propilamino fórmico (740 mg, 2,62 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 204 (M+1).

Ejemplo 94

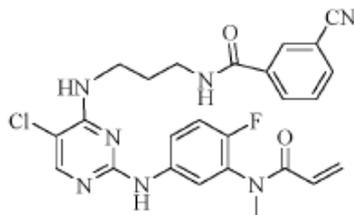
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida



- 30 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida (460 mg, rendimiento del 89,4%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (360 mg, 2,21 mmol) y N-(3-aminopropil)-3-cianobenzamida (300 mg, 1,47 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 350 (M+1).

Ejemplo 95

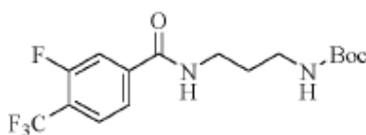
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida (210 mg, rendimiento del 31,8%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-cianobenzamida (460 mg, 1,31 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (280 mg, 1,44 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,80-1,86 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,31-3,35 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,48 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 10,2 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,21-7,26 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,64-7,66 (m, 1H, Ar-H), 7,68-7,70 (m, 1H, Ar-H), 7,89-7,90 (m, 1H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 7,98 (d, J = 7,7 Hz, 1H, Ar-H), 8,13 (d, J = 7,9 Hz, 1H, Ar-H), 8,24 (s, 1H, Ar-H), 8,66 (t, J = 5,7 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 508 (M+1).

Ejemplo 100

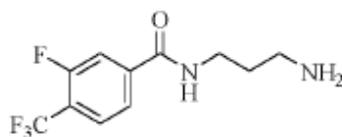
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(3-fluoro-4-trifluorometil benzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido amarillo del éster t-butilico del ácido 3-(3-fluoro-4-trifluorometil benzamino) propilamino fórmico (728 mg, rendimiento del 100%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (348 mg, 2 mmol) y el ácido 3-fluoro-4-trifluorometilbenzoico (416 mg, 2 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 4. CL-EM (m/z) 365 (M+1).

Ejemplo 101

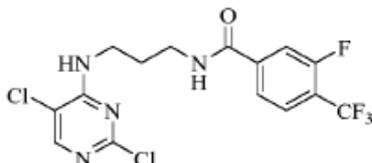
Preparación de N-(3-aminopropil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida (264 mg, rendimiento del 50%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(3-fluoro-4-trifluorometilbenzamino) propilamino fórmico (728 mg, 2 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 5. CL-EM (m/z) 265 (M+1).

Ejemplo 102

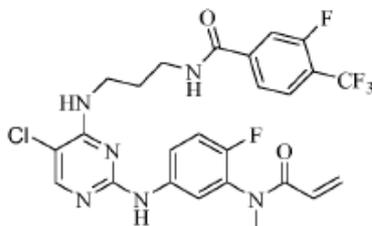
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometil benzamida



- 30 Se preparó un sólido amarillo de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida (200 mg, rendimiento del 49%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (183 mg, 1,00 mmol) y N-(3-aminopropil)-3-fluoro-4-trifluorometil benzamida (264 mg, 1,00 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 411 (M+1).

Ejemplo 103

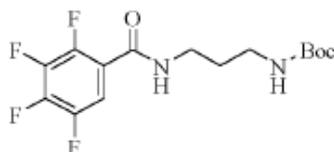
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida



- 5 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometil benzamida (50 mg, rendimiento del 20%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida (205 mg, 0,5 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (110 mg, 0,6 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,86 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,32-3,36 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,4 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,20-7,24 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,64-7,66 (m, 1H, Ar-H), 7,83-7,92 (m, 4H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,75 (t, J = 5,2 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 569 (M+1).

Ejemplo 104

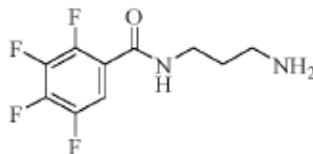
Preparación del éster t-butílico del ácido 3-(2,3,4,5-tetrafluorobenzamino) propilamino fórmico



- 15 Se preparó un sólido blanco de éster t-butílico del ácido 3-(2,3,4,5-tetrafluorobenzamino) propilamino fórmico (400 mg, rendimiento del 57,1%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (348 mg, 2,00 mmol) y cloruro de 2,3,4,5-tetrafluorobenzoilo (848 mg, 4,00 mmol) en base a pasos similares según el Ejemplo 76, CL-EM (m/z) 351 (M+1).

Ejemplo 105

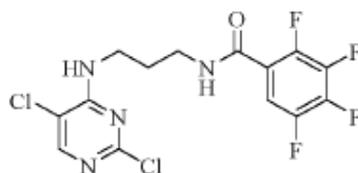
Preparación de N-(3-aminopropil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida (250 mg, rendimiento del 100%) a partir del éster t-butílico del ácido 3-(2,3,4,5-tetrafluorobenzamino) propilamino fórmico (350 mg, 1,00 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 251 (M+1).

Ejemplo 106

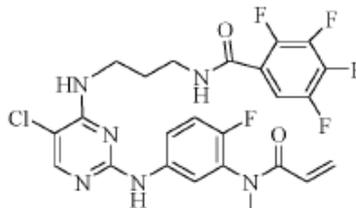
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida (200 mg, rendimiento del 50%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (183 mg, 1,00 mmol) y N-(3-aminopropil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida (250 mg, 1,00 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 397 (M+1).

Ejemplo 107

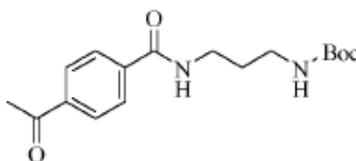
- 5 Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida (50 mg, rendimiento del 18%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida (200 mg, 0,5 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (110 mg, 0,6 mmol) basado en pasos similares de acuerdo con el Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,79-1,82 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,28-3,30 (m, 2H, CH₂), 3,44-3,46 (m, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 9,8 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,21 (m, 1H, CH), 7,23-7,27 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,56-7,61 (m, 1H, Ar-H), 7,65-7,67 (m, 1H, Ar-H), 7,88 (d, J = 5,4 Hz, 1H, Ar-H), 7,95 (s, 1H, pirimidina-H), 8,52 (s, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 555 (M+1).

Ejemplo 108

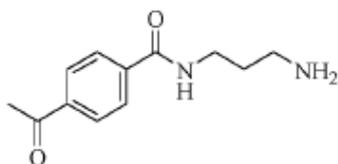
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-acetilbenzamino) propilamino fórmico



- 20 Se preparó un sólido blanco del éster t-butilico del ácido 3-(4-acetilbenzamino) propilamino fórmico (385 mg, rendimiento del 60,2%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (350 mg, 2,01 mmol) y ácido 4-acetilbenzoico (328 mg, 2,00 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 321 (M+1).

Ejemplo 109

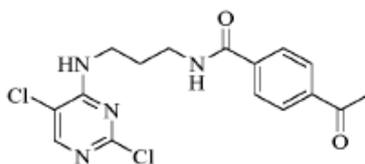
Preparación de 4-acetil-N-(3-aminopropil) benzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de 4-acetil-N-(3-aminopropil) benzamida (200 mg, rendimiento del 75,8%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-acetilbenzamino) propilamino fórmico (385 mg, 1,20 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 221 (M+1).

Ejemplo 110

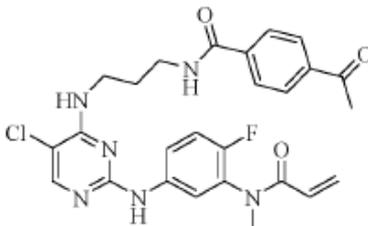
Preparación de 4-acetil-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida



Se preparó un sólido blanco de 4-acetil-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida (120 mg, rendimiento del 36,1%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (180 mg, 0,98 mmol) y 4-acetil-N-(3-aminopropil) benzamida (200 mg, 0,91 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 367 (M+1).

Ejemplo 111

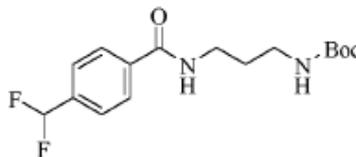
- 5 Preparación de 4-acetil-N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida



- 10 Se preparó un sólido blanco de 4-acetil-N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil) benzamida (83 mg, rendimiento del 47,9%) a partir de 4-acetil-N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil) benzamida (120 mg, 0,33 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (70 mg, 0,36 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,79-1,85 (m, 2H, CH₂), 2,61 (s, 3H, CH₃), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,32-3,36 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,48 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,9 Hz, 1H, CH), 6,02-6,09 (m, 1H, CH), 6,15-6,20 (m, 1H, CH), 7,21-7,28 (m, 2H, pirimidina-NH, Ar-H), 7,64-7,69 (m, 1H, Ar-H), 7,88-7,89 (m, 1H, Ar-H), 7,94 (d, J = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,01 (d, J = 8,4 Hz, 2H, Ar-H), 8,65 (t, J = 5,3 Hz, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 525 (M+1).
- 15

Ejemplo 112

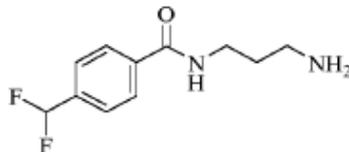
Preparación del éster t-butilico del ácido 3-(4-difluorometilbenzamino) propilamino fórmico



- 20 Se preparó un sólido blanco de éster t-butilico del ácido 3-(4-difluorometilbenzamino) propilamino fórmico (780 mg, rendimiento del 84,3%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-aminopropilamino fórmico (49 mg, 2,82 mmol) y ácido 4-difluorometilbenzoico (485 mg, 2,82 mmol) según etapas similares del ejemplo 4. CL-EM (m/z) 329 (M+1).

Ejemplo 113

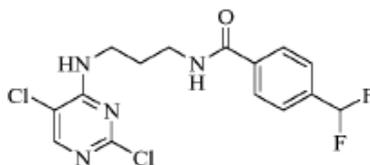
Preparación de N-(3-aminopropil)-4-difluorometilbenzamida



- 25 Se preparó un sólido blanco de N-(3-aminopropil)-4-difluorometilbenzamida (180 mg, rendimiento del 33,2%) a partir del éster t-butilico del ácido 3-(4-difluorometilbenzamino) propilamino fórmico (780 mg, 2,38 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 229 (M+1).

Ejemplo 114

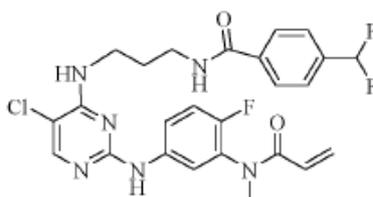
Preparación de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-difluorometilbenzamida



Se preparó un sólido blanco de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-difluorometilbenzamida (250 mg, rendimiento del 84,5%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (180 mg, 0,98 mmol) y N-(3-aminopropil)-4-difluorometilbenzamida (180 mg, 0,79 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 375 (M+1).

5 Ejemplo 115

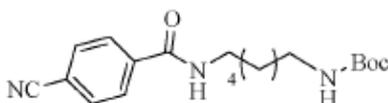
Preparación de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-difluorometilbenzamida



10 Se preparó un sólido blanco de N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) propil)-4-difluorometilbenzamida (80 mg, rendimiento del 23,2%) a partir de N-(3-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) propil)-4-difluorometilbenzamida (80 mg, 0,21 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (50 mg, 0,26 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,81-1,84 (m, 2H, CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,32-3,40 (m, 2H, CH₂), 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂), 5,59 (d, J = 9,4 Hz, 1H, CH), 6,03-6,09 (m, 1H, CH), 6,16-6,20 (m, 1H, CH), 6,94 (s, 0,4H, CHF₂), 7,08 (s, 0,6H, CHF₂), 7,22-7,26 (m, 2H, Ar-H, pirimidina-NH), 7,64-7,66 (m, 3H, Ar-H), 7,89-7,90 (m, 1H, Ar-H), 7,95 (d, J = 7,3 Hz, 2H, Ar-H), 7,96 (s, 1H, pirimidina-H), 8,59 (s, 1H, NH), 9,40 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 533 (M+1).

Ejemplo 120

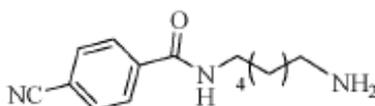
Preparación del éster t-butilico del ácido 6-(4-ciano-benzamino) hexilamino-fórmico



20 Se preparó un sólido blanco de éster t-butilico del ácido 6-(4-ciano-benzamino) hexilamino fórmico (1300 mg, rendimiento del 73,4%) a partir del éster t-butilico del ácido 6-hexilamino fórmico (1100 mg, 5,09 mmol) y cloruro de 4-ciano-benzoilo (900 mg, 5,45 mmol) según etapas similares del Ejemplo 76. CL-EM (m/z) 346 (M+1).

Ejemplo 121

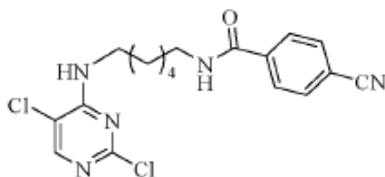
Preparación de N-(6-aminohexil)-4-ciano-benzamida



25 Se preparó un sólido blanco de N-(6-aminohexil)-4-ciano-benzamida (700 mg, rendimiento del 75,6%) a partir del éster t-butilico del ácido 6-(4-ciano-benzamino) hexilamino fórmico (1300 mg, 3,76 mmol) según etapas similares del ejemplo 5. CL-EM (m/z) 246 (M+1).

Ejemplo 122

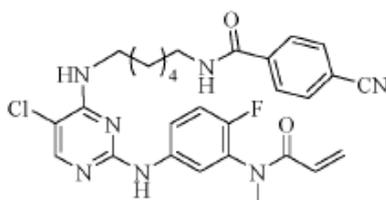
30 Preparación de 4-ciano-N-(6-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) hexil) benzamida



Se preparó un sólido blanco de 4-ciano-N-(6-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) hexil) benzamida (80 mg, rendimiento del 49,7%) a partir de 2,4,5-tricloropirimidina (120 mg, 0,66 mmol) y N-(6-aminohexil)-4-ciano-benzamida (100 mg, 0,41 mmol) según etapas similares del Ejemplo 6. CL-EM (m/z) 392 (M+1).

5 Ejemplo 123

Preparación de N-(6-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) hexil)-4-cianobenzamida



10 Se preparó un sólido blanco de N-(6-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido) fenilamino) pirimidinil-4-amino) hexil)-4-ciano-benzamida (47 mg, rendimiento de 50,3%) a partir de 4-ciano-N-(6-(2,5-dicloropirimidinil-4-amino) hexil) benzamida (68 mg, 0,17 mmol) y N-(5-amino-2-fluorofenil)-N-metilacrilamida (46 mg, 0,24 mmol) según etapas similares del Ejemplo 7. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 1,30-1,32 (m, 4H, 2 × CH₂), 1,52-1,56 (m, 4H, 2 × CH₂), 3,19 (s, 3H, CH₃), 3,26-3,29 (m, 2H, CH₂), 3,36-3,37 (m, 2H, CH₂), 5,60 (d, J = 9,9 Hz, 1H, CH), 6,03-6,10 (m, 1H, CH), 6,17-6,21 (m, 1H, CH), 7,22-7,27 (m, 2H, pirimidina-NH, Ar-H), 7,59-7,61 (m, 1H, Ar-H), 7,93-7,98 (m, 6H, pirimidina-NH, Ar-H), 8,64 (s, 1H, NH), 9,38 (s, 1H, anillo de benceno-NH). CL-EM (m/z) 550 (M+1).

Evaluación biológica in vitro

Estos métodos de prueba se usan para la evaluación de la actividad in vitro de los compuestos descritos en este documento, incluido el ensayo de actividad enzimática in vitro, el ensayo de actividad de crecimiento celular y el ensayo de actividad intracelular.

20 Estos ensayos tienen como objetivo evaluar exhaustivamente las propiedades de la actividad inhibidora enzimática in vitro de diversos compuestos en quinasas, tales como JAK, ITK, BLK y VEGFR, etc., sus características de selectividad de subtipos y sus influencias en las actividades biológicas, incluido la actividad del crecimiento celular y la actividad de regulación en la vía de señalización de los modelos celulares.

Ejemplo A. Detección de actividad enzimática

25 Principios principales

El principio básico del ensayo de actividad enzimática in vitro se basa en la diferencia entre las intensidades de las señales de fluorescencia generadas a diferentes longitudes de onda (445 nm y 520 nm) del sustrato fosforilado y el sustrato no fosforilado, en el que el sustrato específico marcado con fluorescencia es fosforilado por la quinasa. Cuando se agregan diferentes compuestos de prueba, la inhibición de la actividad de la quinasa se representa como los diferentes grados de fosforilación del sustrato y, por lo tanto, como las diferentes intensidades de la señal de fluorescencia en función de las cuales se puede calcular la actividad inhibidora del compuesto sobre la quinasa. El principio básico de detección se ilustra en la FIG. 1.

En la detección de las actividades inhibitorias enzimáticas, se usan JAK quinasas recombinantes humanas marcadas con GST, que incluyen JAK1/PV4774, JAK2/PV4210, JAK3/PV3855, TYK2/PV4790 y sus sustratos específicos correspondientes, incluido Tyr6 (kit de ensayo de quinasa Z'-LYTE®-Péptido de tirosina 6, JAK1/PV4122), Tyr4 (kit de ensayo de quinasa Z'-LYTE®-Péptido de tirosina 4, JAK2/PV3193), Tyr4 (Kit de ensayo de quinasa Z'-LYTE®-Péptido de tirosina 4, JAK3/PV3193), Tyr3 (kit de ensayo de quinasa Z'-LYTE®, péptido de tirosina 4, TYK2/PV3192). En todas las pruebas, se usó el reactivo de desarrollo A (PV3297) como agente de prueba. Todos los materiales mencionados anteriormente se compraron en Invitrogen.

40 Procedimientos principales

La prueba se lleva a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen). El procedimiento específico es el siguiente:

(1) Preparación: el tampón de reacción de la quinasa (solución de trabajo) se prepara según las instrucciones; se prepara un gradiente de concentración del compuesto de prueba mediante dilución usando el tampón de reacción de quinasa (la concentración de compuesto más alta es 10 µM para la detección de JAK1, JAK2 y TYK2, y 1 µM para la detección de JAK3, respectivamente).

5 (2) Se mezclan 10 µl del sistema de reacción, que comprende 2,5 µl de compuesto de prueba, 5 µl de tampón de reacción de quinasa y 2,5 µl de solución de ATP (proporcionada por el kit), y la reacción se realiza a temperatura ambiente durante 1 h.

10 (3) Los controles, que incluyen un control de disolvente sin el compuesto de prueba, un control negativo sin ATP y un control positivo con el sustrato fosforilado, se prueban junto con la detección. Todas las pruebas se llevan a cabo por triplicado.

(4) Después de la reacción enzimática, se agregan 5 µL de tampón de desarrollo preformulado, y la reacción se realiza a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente, la reacción se termina agregando 5 µL de tampón de parada.

15 (5) La señal de fluorescencia en cada pocillo es detectada por un lector Ascent Fluoroskan FL (Thermo Labsystems) a una longitud de onda de excitación de 400 nm y longitudes de onda de emisión de 445 nm y 520 nm. La proporción de fosforilación del sustrato se obtiene por referencia a la intensidad de la señal de fluorescencia C445/F520,

20 (6) La tasa de inhibición enzimática del compuesto de prueba se puede calcular en base a la siguiente ecuación: tasa de inhibición (%) = 1-la proporción de fosforilación del sustrato en el pocillo de detección/la proporción de fosforilación del sustrato en el pocillo de control del solvente. La concentración semi-inhibitoria (IC₅₀) se puede calcular usando un cálculo de IC₅₀ basado en las tasas inhibitorias de fosforilación para los compuestos de prueba a diferentes gradientes de concentración.

25 Basado en el método anterior, los compuestos descritos en este documento se evalúan enzimáticamente in vitro para JAK (la concentración del compuesto de prueba es 30 nM para las pruebas con JAK3 y JAK2, y 300 nM para la prueba con JAK1) usando Xeljanz (citrato de tofacitinib) como control positivo. Los datos se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos enzimáticos de los compuestos representativos en la presente invención para la inhibición de JAK

Ejemplo	JAK3(RV ^a) % Tasa inhibitoria @ 30 nM	JAK1(RV ^a) % Tasa inhibitoria @ 300 nM	JAK2(RV ^a) % Tasa inhibitoria @ 30 nM
7	63(0,84)	56(0,58)	5(0,08)
13	79(0,96)	35(0,40)	0
17	84(0,97)	79(0,93)	1(0,03)
19	59(0,68)	39(0,46)	0
21	71(0,82)	59(0,69)	2(0,07)
22	75(0,82)	18(0,33)	0
23	81(0,88)	19(0,35)	0
27	35(0,59)	42(0,45)	ND
28	81(0,85)	34(0,40)	2(0,03)
32	89(0,94)	49(0,57)	2(0,03)
36	104(0,53)	42(0,25)	0
40	89(0,46)	4(0,02)	0
44	113(0,58)	58(0,34)	0
48	109(0,56)	0	0
52	105(0,54)	14(0,08)	0
56	116(0,59)	9(0,05)	0

ES 2 754 403 T3

58	107(0,79)	1(0,01)	0
60	106(0,79)	0	0
64	105(0,78)	13(0,13)	0
68	103(0,76)	15(0,15)	0
71	95(0,70)	7(0,70)	1(0,01)
75	121(0,90)	14(0,14)	0
79	80(0,96)	19(0,22)	0
83	76(0,92)	36(0,42)	2(0,04)
87	82(0,99)	43(0,51)	0
91	82(0,99)	20(0,24)	0
95	84(1,01)	45(0,53)	0
103	86(1,04)	74(0,87)	0
107	84(1,01)	67(0,79)	0
111	82(0,99)	16(0,19)	0
115	81(0,98)	42(0,49)	0
123	79(0,95)	0	0
^a RV = relación entre la tasa inhibitoria del compuesto de prueba y el de Xeljanz; ND (sin datos)			

Como se indica por los datos anteriores en la tabla, los compuestos de la invención tienen actividad inhibitoria selectiva de las quinasas JAK3 y/o JAK1, en comparación con el control positivo.

5 Una proporción de los compuestos de la presente invención se somete a un análisis del perfil de quinasas (KinaseProfiler™) y a un ensayo de actividad inhibitoria enzimática (IC₅₀Profiler™) basado en la empresa Eurofins (<http://www.eurofins.com>). Además de las quinasas de la familia JAK, las quinasas que han sido evaluadas para determinar su actividad también incluyen la mayoría de las quinasas del Grupo 3F y del Grupo 4 (ITK, BLK, TBK1, VEGFR, ERBB, etc.) y las quinasas relacionadas con el sistema sanguíneo (Zhang J. et al. 2009, Nat. Rev. Cancer., 9: 28-39). La concentración del compuesto de prueba para la detección del perfil de quinasas es de 1 μM, y se utiliza un gradiente de 9 gradientes de concentración semilógica para determinar la IC₅₀. La detección se lleva a cabo de acuerdo con el procedimiento estándar de Eurofins Company. Brevemente, de acuerdo con los requisitos de diferentes reacciones de quinasas, se agregan 0,2 μL de compuesto de prueba (50 μM, disuelto en dimetil sulfóxido (DMSO)) al tampón de reacción que contiene quinasas específicas (el sistema de tampón que contiene MOPS 20 mM, EDTA 1 mM, 0,01% Brij-35, glicerol al 5%, β-mercaptoetanol al 0,1%, BSA de 1 mg/ml, o TRIS 50 mM, EGTA 0,1 mM, Na₃VO₄ 0,1 mM, β-mercaptoetanol al 0,1%, 1 mg/ml de BSA, según el tipo de quinasas utilizadas). Posteriormente, un sustrato específico de quinasas a una concentración final de 50 μM (sustrato específico utilizado para una quinasas específicas), acetato de Mg 10 mM y ATP marcado con isótopo γ-³³P (radioactividad de aproximadamente 500 cpm/pmol) añadido a un volumen total de 10 μL para el sistema de reacción. Después de la incubación a temperatura ambiente durante 40 minutos, la reacción se termina agregando una solución de ácido fosfórico al 3%. La mezcla se transfiere luego a un secador por pulverización de baja temperatura de tipo filtro (esterilla de filtro P30) y se lava con una solución de ácido fosfórico 75 mM durante 3 veces y una vez con metanol. Después del secado, se detecta radioactividad. Para conocer el procedimiento específico, consúltese el procedimiento estándar proporcionado por Eurofins Company: http://www.eurofins.com/media/9724077/kinaseprofiler_assay_protocol_guide_eurofins_v64.pdf. Los datos se resumen en la tabla siguiente (Tabla 3).

Tabla 3. IC₅₀ de los compuestos representativos de la invención para su inhibición en JAKs, ITK, BLK, TBK1 y VEGFR (nM)

Ejemplo	IC ₅₀ (nM)								
	JAK3	JAK1	JAK2	TYK2	ITK	BLK	TBK1	Flt1	Flt4
7	11	105	1404	>10.000	319	286	162	698	107
22	21	279	>10.000	>>10.000	>10.000	1658	>10.000	>10.000	>10.000
23	11	173	1915	ND	>10.000	855	664	1228	42
ND (Sin datos)									

5 Como se indica por los datos en la tabla anterior, (1) algunos compuestos de la invención tienen actividad inhibidora selectiva de la quinasa JAK3 y/o JAK1. (2) Algunos compuestos de la invención tienen actividad inhibitoria en una parte de las quinasas de las familias ITK, BLK, TBK1 y VEGFR.

Ejemplo B. Ensayo de actividad del crecimiento celular

10 Como se describió anteriormente, la expresión de la quinasa JAK se distribuye de manera específica y, además, en las células del sistema inmunitario también se expresa en algunos otros tipos de células. JAK3 se expresa principalmente en células T, mientras que otros subtipos están ampliamente distribuidos. La quinasa JAK influye potencialmente en la actividad de crecimiento de las células diana al mediar varias señales de citoquinas. Los inhibidores de las quinasas JAK pueden tener diferentes efectos sobre el crecimiento de las células modelo al inhibir diferentes subtipos de JAK.

15 El ensayo MTS es un método de rutina para la detección de la toxicidad celular. El principio básico se basa en la capacidad de la deshidrogenasa en las mitocondrias de las células vivas para reducir un nuevo compuesto de formazán amarillo MTS a formazán, de modo que la cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de producto de formazán al detectar la absorbancia a 490 nm (OD), calculando así la cantidad de células vivas de acuerdo con el valor de OD, y entendiendo la capacidad del compuesto de prueba para inhibir el crecimiento de las células o matarlas.

20 En este experimento, el efecto de los compuestos de la invención sobre la actividad del crecimiento celular se evalúa mediante el ensayo MTS usando diferentes tipos de modelos celulares para comprender mejor sus actividades intracelulares.

(1) Modelo de células CTLL-2

Principios principales

25 La actividad de los JAK tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de las células inmunes. Para las células T proliferativas activadas, su crecimiento depende de la actividad del receptor del factor de crecimiento celular IL-2 y sus quinasas posteriores JAK1 y JAK3.

30 En este experimento, se usó la línea de células T de ratón CTLL-2. La proliferación y el crecimiento de esta línea celular dependen en gran medida de la IL-2, y se usa comúnmente para evaluar el título activo de la IL-2 exógena. Al inhibir la actividad de la quinasa JAK1/3, la proliferación de CTLL-2 puede inhibirse bajo cultivo in vitro. La activación y proliferación de las células T también son características patológicas importantes para diversas enfermedades inmunológicas. Por lo tanto, este modelo también está patológicamente relacionado.

35 Al comparar el cambio de absorbancia generado por las células tratadas por los compuestos de prueba utilizando el ensayo MTS, se puede realizar la actividad inhibidora del crecimiento de los compuestos de prueba en las células modelo y, por lo tanto, se puede evaluar la actividad inhibidora potencial de los compuestos en la ruta JAK1/3.

Procedimientos principales

40 El MTS se realiza de acuerdo con el procedimiento de rutina en una placa de 96 pocillos. Las células modelo se inoculan en cada pocillo de la placa de 96 pocillos a una concentración apropiada (aproximadamente 20.000 células/pocillo). Después de 24 h, los compuestos de prueba se agregan a diferentes gradientes de concentración (la concentración más alta de 10 µM). Un control de solvente (DMSO) y un control negativo también se realizan al mismo tiempo. Cada experimento se repite 3 veces. Las células se detectan después de cultivarlas durante otras 24 h.

ES 2 754 403 T3

CTLL-2 es una célula suspendida. Después de la incubación, se agregan directamente a cada pocillo 20 µL de mezcla preformulada de MTS y PMS (en una proporción de 20:1). Después de la incubación a 37°C durante 2 h, luego se detecta mediante un lector de microplacas (490 nm).

- 5 El efecto del compuesto de prueba sobre el crecimiento celular se calcula comparando el cambio de los valores de OD entre el pozo de prueba y el pozo de control de solvente, después de restar el fondo del control negativo. Para los compuestos de prueba a diferentes gradientes de concentración, se calculan las tasas inhibitorias sobre el crecimiento de las células modelo y sus semi-concentraciones inhibitorias de crecimiento (GI_{50}).

(2) Modelo de células HeLa y HUVEC

Principios principales

- 10 Las células HeLa son una línea celular del cáncer de cuello uterino humano y pertenecen a las líneas celulares de tumores epiteliales; HUVEC son células endoteliales de la vena umbilical humana y pertenecen a las células endoteliales primarias; ambos tipos de células expresan todos los subtipos, excepto JAK3.

- 15 El cambio de la actividad de la quinasa JAK no tiene ninguna influencia significativa en otros tipos de células, excepto en las células inmunes, y ambos modelos celulares mencionados anteriormente se utilizan principalmente para evaluar si hay otras dianas de quinastas además de las quinastas JAK o si hay toxicidades celulares no selectivas.

En este experimento, un modelo celular cultivado se incubaba con los compuestos de prueba a diferentes concentraciones durante un período específico. El efecto del tratamiento por el compuesto de prueba sobre el crecimiento de las células se detecta usando el ensayo MTS.

- 20 Procedimientos principales

El MTS se realiza de acuerdo con un procedimiento de rutina en una placa de 96 pocillos.

- 25 Las células modelo se inoculan en cada pocillo de la placa de 96 pocillos a una concentración apropiada (aproximadamente 5000 células/pocillo). Después de 24 h, los compuestos de prueba se agregan a diferentes gradientes de concentración (la concentración final más alta es 40 µM). Un control de solvente (DMSO) y un control negativo también se realizan al mismo tiempo. Cada experimento se repite 3 veces. Las células se detectan después de cultivarlas durante otras 72 h.

Después de aspirar todo el medio de cultivo del pocillo, se añaden a cada pocillo 100 µL de medio recién preparado y 20 µL de mezcla preformulada de MTS y PMS (en una proporción de 20:1). Después de la incubación a 37°C durante 2 h, luego se detecta mediante un lector de microplacas (490 nm).

- 30 La tasa inhibitoria del crecimiento celular y la GI_{50} del compuesto de prueba se calculan como anteriormente.

En base al método anterior, se realiza una evaluación citológica de los compuestos descritos en este documento (para la detección de células CTLL-2, la concentración del compuesto de prueba es 300 nM; para la detección de células HeLa y HUVEC, la concentración del compuesto de prueba es de 10 nM). Los datos se resumen en la tabla siguiente (Tabla 4).

- 35 Tabla 4 Las tasas de crecimiento de diferentes cepas celulares tratadas con los compuestos representativos de la invención

Ejemplo	CTLL-2 % Tasa inhibitoria @ 300 nM	HeLa % Tasa inhibitoria @ 10 nM	HUVEC % Tasa inhibitoria @ 10 nM
7	10	98	94
13	63	1	ND
17	20	1	1
19	67	108	136
21	57	94	102
22	7	78	116
23	4	96	112
27	85	30	6

ES 2 754 403 T3

28	77	81	98
32	16	68	72
36	32	38	ND
40	39	82	ND
44	29	39	ND
48	50	90	ND
52	29	64	ND
56	30	60	ND
58	54	88	ND
60	79	94	ND
64	37	78	ND
68	69	110	ND
71	70	112	ND
75	49	102	ND
79	3	78	ND
83	4	70	ND
87	3	22	ND
91	2	40	ND
95	3	3	ND
103	3	55	ND
107	2	59	ND
111	3	67	ND
115	3	71	ND
123	5	5	ND
ND (sin datos)			

Como se indica por los datos en la tabla anterior, una porción de los compuestos de la invención tiene actividad inhibidora específica en la célula CTLL-2.

- 5 Basado en métodos experimentales citológicos, los compuestos de la invención se someten a un ensayo enzimático in vitro IC₅₀ y a un ensayo GI₅₀ de diferentes cepas celulares, utilizando Xeljanz como control positivo. Los resultados se resumen en la tabla siguiente (Tabla 5).

Tabla 5. GI₅₀ de los compuestos representativos de la invención en diferentes cepas de células (µM)

Ejemplo	CTLL-2 GI ₅₀ (nM)	Hela GI ₅₀ (nM)	HUVEC GI ₅₀ (nM)
7	116	>40	>40
22	249	>40	>40
23	140	ND	>40

Xeljanz	67	>40	>40
ND (sin datos)			

Como se indica por los datos en la tabla anterior, los compuestos de la invención tienen una actividad inhibidora de la quinasa JAK3 altamente selectiva, y estos compuestos también tienen una actividad inhibidora específica favorable en las células CTLL-2, en comparación con el control positivo.

5 Ejemplo C. Ensayo de actividad intracelular

Las citocinas, las quinasas JAK y la vía de señalización de proteínas STAT forman una red compleja. Al activar un homodímero de un subtipo JAK específico o un heterodímero de diferentes subtipos, diferentes citocinas promueven la fosforilación de diferentes miembros de la proteína STAT. En diferentes modelos celulares, las señales para la fosforilación de STAT posterior específicamente relacionadas con el subtipo JAK relevante se pueden detectar utilizando la estimulación específica de la citocina, mientras que los inhibidores de JAK suprimen la actividad de la vía al inhibir la actividad de las quinasas relacionadas, de modo que se puede evaluar la actividad inhibitoria intracelular de los compuestos de prueba en diferentes subtipos de JAK.

En este experimento, la transferencia Western (WB) y la citometría de flujo se utilizan para evaluar las actividades intracelulares de los compuestos de prueba mediante la comparación de los niveles relativos de las señales de STAT fosforiladas y no fosforiladas en 5 modelos celulares, incluidos U937, THP-1, CTLL-2, UT-7/EPO y células sanguíneas de la periferia humana activadas (hPBC). El anticuerpo primario y el anticuerpo secundario utilizados en la hibridación WB en este experimento se compran en Cell Signaling Company (<http://www.cellsignal.com>). Los anticuerpos marcados con fluorescencia utilizados en la citometría de flujo se compran en eBiosciences Company (<http://www.ebioscience.com>).

20 Principios principales

U937 es una línea celular monocítica. La citocina IFN γ induce la fosforilación de STAT5a posterior activando el heterodímero de JAK1/2 e inhibe la fosforilación de STAT5a inhibiendo la actividad de JAK1/2. Sobre esa base, la actividad inhibidora intracelular de los compuestos de prueba en JAK1/2 puede evaluarse detectando el cambio del nivel de fosforilación de STAT5.

25 THP-1 es una línea celular monocítica. La citocina IL-4 induce la fosforilación de STAT6 posterior activando el heterodímero de JAK1/3, y un inhibidor de JAK suprime la fosforilación de STAT6 al suprimir la actividad de JAK1/3. La actividad inhibitoria intracelular de los compuestos en JAK1/3 puede evaluarse detectando el cambio del nivel de fosforilación de STAT6.

30 CTLL-2 es una línea de células T, y su proliferación y crecimiento depende de la citocina IL-2. La citocina IL-2 induce la fosforilación de STAT5 posterior activando el heterodímero de JAK1/3, y un inhibidor de JAK suprime la fosforilación de STAT5 al suprimir la actividad de JAK1/3. La actividad inhibitoria intracelular de los compuestos en JAK1/3 puede evaluarse detectando el cambio del nivel de fosforilación de STAT5.

35 UT-7/EPO es una línea celular formada a partir de la médula de un paciente que sufre de leucemia de células gigantes después de cultivarse con inducción de EPO, y tiene una respuesta obvia con respecto a la citocina EPO. La señal para EPO se transmite a través del homodímero de JAK2 e induce la fosforilación de STAT5 posterior, mientras que un inhibidor de JAK suprime la fosforilación de STAT5 al suprimir la actividad de JAK2. La actividad inhibidora intracelular de los compuestos en JAK2 puede evaluarse detectando el cambio del nivel de fosforilación de STAT5.

40 La proliferación dependiente de la citocina IL-2 se forma después de la activación por coestimulación de las células sanguíneas de la periferia humana (hPBC) con el anticuerpo CD3. La ruta de la señal de crecimiento está mediada por el heterodímero de JAK1/3 e induce la fosforilación de STAT5 posterior. La actividad inhibitoria intracelular de los compuestos en JAK1/3 puede evaluarse detectando el cambio del nivel de fosforilación de STAT5.

Procedimientos principales

Transferencia Western (WB)

45 (1) Tratamiento por el compuesto: el experimento se lleva a cabo en una placa de 6 pocillos. Las células U937 y THP-1 se cultivan cada una a una densidad apropiada, en la que se agrega el compuesto de prueba a diferentes concentraciones. Después de cultivar durante la noche (16 h), se agrega IFN γ y o IL-4 (10 ng/mL) correspondientemente. Las células se recogen por centrifugación 30 minutos después.

50 (2) Extracción de proteínas y detección de WB: después de la extracción, se determina el contenido de proteínas. La proteína se transfiere a una membrana después de la electroforesis PAGE. La detección de WB se realiza de acuerdo con un procedimiento estándar. Los anticuerpos secundarios utilizados para la hibridación incluyen STAT5

(Nº. 9363), STAT6 (Nº. 9362) y el correspondiente STAT5 fosforilado (Nº. 9351), STAT6 (Nº. 9361). La detección se realiza de acuerdo con el método recomendado en la instrucción de anticuerpos.

5 (3) Detección de la señal: la señal de hibridación se detecta mediante imágenes de rayos X. La señal de la escala de grises obtenida mediante escaneo se convierte en una señal digital, y las intensidades de señal tanto para STAT fosforilado como para STAT se calculan para evaluar las actividades inhibitoras de fosforilación de los compuestos en STAT.

Citometría de flujo (FCS)

10 (1) Tratamiento por el compuesto: el experimento se lleva a cabo en una placa de 6 pocillos. THP-1, CTLL-2, UT7/EPO y células sanguíneas periféricas activadas in vitro (hPBC) de voluntarios se cultivan cada una a una densidad apropiada, en la que se agrega el compuesto de prueba a diferentes concentraciones. Después de cultivar durante la noche (16 h), se agregan IFN γ , IL-4, IL-2 y EPO (10 ng/mL) de manera correspondiente. Las células se recogen por centrifugación 30 minutos después.

15 (2) Fijación celular y marcaje con fluorescencia: las células se fijan usando paraformaldehído (30 min) y, posteriormente, se tratan para determinar la permeabilidad de la membrana en metanol refrigerado (15 min). Después de lavarlas con tampón PBS, las células se suspenden, en las cuales se han agregado los anticuerpos STAT5 y STAT6 resistentes a la fosforilación (p-STAT5 anti-humano de ratón (pY694)-Fluor@488; p-STAT6 anti-conejo de ratón (pY641)-Fluor@488) en una proporción de 100:1 y se incuban en la oscuridad durante 30 minutos. Después de lavar con PBS, las células se preparan en suspensión para cargarlas.

20 (3) Detección por citometría de flujo: la detección se lleva a cabo utilizando el citómetro de flujo Guava® easyCyte de acuerdo con las instrucciones. La media de la intensidad fluorescente (MFI) de una muestra se detecta usando una población de células apropiada. Con respecto a esto, las intensidades de señal relativas se calculan para los STAT fosforilados tratados por los compuestos a diferentes concentraciones en referencia a la señal del control negativo (sin estimulación de factor) y el positivo (con estimulación de factor y control de solvente) en el experimento, de modo que se pueda evaluar la IC₅₀ del compuesto para la actividad inhibitoria con respecto a la fosforilación de STAT.

25 Con referencia a los métodos experimentales anteriores, los compuestos de la invención se seleccionan para WB y citometría de flujo, en los que una porción de los compuestos inhibió la fosforilación de STAT en modelos celulares específicos, siendo los valores de CI₅₀ los siguientes. Los datos se resumen en la tabla siguiente (Tabla 6).

Tabla 6. Inhibición de los compuestos de la invención con respecto a la fosforilación

Ejemplo	IL-4/JAK1 y 3/STAT6 (THP-1) IC ₅₀ (μM)	EPO/JAK2/STAT5a (UT-7) IC ₅₀ (μM)	IL-2/JAK1 y 3/STAT5 (CTLL-2) IC ₅₀ (μM)	IL-2/JAK1 3/STAT5 (hPBC) IC ₅₀ (μM)
7	1,69	>3	0,08	0,16
22	ND	>3	ND	0,20
23	1,73	>3	0,13	0,24
ND (Sin datos)				

30 Como se indica por los datos en la tabla anterior, una porción de los compuestos de la invención tiene actividad inhibitoria selectiva intracelular de JAK3 y/o JAK1, que es consistente con el resultado obtenido en la evaluación enzimática in vitro.

Ejemplo D. Efecto de los compuestos de prueba en el modelo en ratas con artritis inducida por colágeno (CIA)

35 **Objetivo:** en esta prueba, la artritis es inducida por colágeno de pollo en ratas Wistar. Después de la administración in vivo de los compuestos del Ejemplo 7 y el Ejemplo 22, se evalúa el cambio del índice de enfermedad para la artritis en ratas para determinar el efecto terapéutico de los compuestos de prueba con respecto a la artritis en ratas.

40 **Animales experimentales:** se compraron 36 ratas Wistar hembras en el centro de experimentación con animales, de la Universidad Sun Yat-Sen (Guangzhou) con un peso corporal de 180 a 200 g al comienzo del experimento. Se usaron cuatro grupos (8 ratas en cada grupo) como modelo de artritis, y otro grupo (4 ratas) se usó como control normal.

Materiales: colágeno de pollo tipo II y adyuvante completo de Freund fueron adquiridos de Beijing Biolead Science and Technology Development Co., Ltd. Control positivo: metotrexato (MTX).

Compuestos de prueba: los compuestos del Ejemplo 7 y el Ejemplo 22.

Método de preparación: los compuestos de prueba se prepararon agregándolos a solución de Tween-80 al 0,2% de CMC-Na + 0,1% recién preparada en agua estéril a una concentración deseada y mezclándola completamente por ultrasonido.

5 Métodos experimentales:

Modelo CIA: el colágeno de pollo se emulsionó completamente en el mismo volumen de adyuvante completo de Freund, y se inyectó por vía subcutánea en la raíz de la cola de la rata el día 0 para sensibilización (250 µL/rata). Se realizó otra inyección en la raíz de la cola el día 7 para la inmunización suplementaria (100 µL/rata). Después de que se produjo la artritis (aproximadamente el día 13), las ratas se dividieron aleatoriamente en 4 grupos con 8 ratas en cada grupo. La administración comenzó el día 14 después de la primera inmunización y duró 14 días. Las extremidades de una rata se inspeccionaron visualmente y la gravedad de la artritis se calificó en un rango de 1 a 4: 0 = normal; 1 = un síntoma leve, con signos, como tobillo o muñeca rojos e hinchados; 2 = tobillo o muñeca rojos e hinchados moderados; 3 = pata roja e hinchada grave, incluidos los dedos de los pies; 4 = articulación inflamada severa acompañada de disfunción; la puntuación más alta para cada rata fue de 16. El grosor de los dedos de las extremidades posteriores y el volumen de la pata se midieron al mismo tiempo.

Medicación: a las ratas les fue administrado i.g. el compuesto del Ejemplo 7 a una concentración de 40 mg/kg dos veces/día; o a las ratas les fue administrado i.g. el compuesto del Ejemplo 22 a una concentración de 40 mg/kg dos veces/día. Para el control positivo, se inyectaron intraperitonealmente 5 mg/kg de MTX dos veces por semana. La administración i.g. de disolvente se usó como control negativo. Se compararon los datos obtenidos 14 días después de la administración y antes de la administración. Los resultados se enumeran en la tabla siguiente (Tabla 7).

Tabla 7. Eficacia de los compuestos de prueba en el modelo de artritis inducida por colágeno (CIA) en ratas

Compuesto	Tasa inhibitoria para el % de puntuación de artritis	Tasa inhibitoria para el % de espesor del dedo del pie	Tasa inhibitoria para el % de volumen de la pata	% de tasa de crecimiento del peso corporal
Disolvente	0,0	0,0	0,0	100,0
MTX	73,1	70,2	43,1	95,4
7	75,0	74,3	63,6	102,2
22	25,5	13,9	24,6	102,0

Resultados:

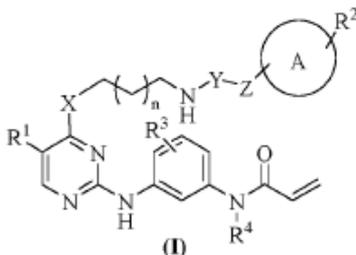
1. En comparación con el grupo del disolvente, el grado de hinchamiento inducido por la artritis en las ratas se inhibió significativamente cuando el compuesto del Ejemplo 7 (40 mg/kg) fue administrado i.g., y las tasas inhibitorias para todos los índices fueron mejores que las obtenidas por el control positivo de metotrexato; también se observó cierto efecto inhibitorio para la artritis en las ratas cuando el compuesto del Ejemplo 22 (40 mg/kg) fue administrado i.g.

2. En comparación con el grupo del disolvente, el peso corporal de las ratas en el grupo de metotrexato disminuyó, lo que sugiere cierta toxicidad de metotrexato para las ratas. Las ganancias de peso corporal de las ratas en ambos grupos del compuesto de prueba de los Ejemplos 7 y 22 fueron mejores que las del grupo del disolvente, lo que demuestra que ambos compuestos de los Ejemplos 7 y 22 no tienen toxicidad significativa. Los índices de eficacia/seguridad del compuesto del Ejemplo 7 son mejores que los del control positivo MTX.

35

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I),



o un estereoisómero, sal farmacéuticamente aceptable o hidrato de la misma,

5 en el que

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, halógeno, alquilo C1-C6, alcoxi C1-C6, haloalquilo C1-C6, alquilcarbonilo C1-C6 y alquiloamino C1-C6;

R³ es hidrógeno o halógeno;

10 R⁴ es hidrógeno o alquilo C1-C4;

X es NH, O o S;

Y es CO o S(O)₂;

Z es un bono covalente, CH₂ o (CH₂)₂;

n es un número entero de 1 a 4; y

15 el anillo A es un anillo de benceno, un anillo de piridina o un anillo de piperidina.

2. El compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

20 R³ es hidrógeno o halógeno;

R⁴ es hidrógeno o metilo;

X es NH u O;

Y es CO o S(O)₂;

Z es un enlace covalente, CH₂ o (CH₂)₂;

25 n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, un anillo de piridina o un anillo de piperidina.

3. El compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

30 R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

R³ es hidrógeno o fluoro;

R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, anillo de piridina.

5 4. El compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es cloro, fluoro o metilo;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

R³ es hidrógeno o fluoro;

10 R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n es un número entero de 1 a 4; y

15 el anillo A es un anillo de benceno.

5. El compuesto de la fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es cloro;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, fluoro, metilo, etilo, metoxilo, difluorometilo, trifluorometilo, acetilo y dimetilamino;

20 R³ es hidrógeno o fluoro;

R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

25 n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno.

6. El compuesto de la fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es cloro;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por ciano, fluoro y trifluorometilo;

30 R³ es hidrógeno o fluoro;

R⁴ es metilo;

X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

35 n=1; y

el anillo A es un anillo de benceno.

7. El compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1, en el que:

R¹ es cloro;

R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por ciano;

R³ es hidrógeno o fluoro;

R⁴ es metilo;

5 X es NH;

Y es CO;

Z es un enlace covalente;

n=1; y

el anillo A es un anillo de benceno.

10 8. El compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-cianobenzamida;

N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino)propil)-4-trifluorometilbenzamida;

N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluoro-fenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino)propil)-4-fluorobenzamida;

4-fluoro-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino)propil)benzamida;

15 N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino)propil)-4-trifluorometilbenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-trifluorometilbenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-fluorobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-1-metilpiperidinil-4-formamida;

N-(3-(2-(3-acrilamido-4-fluorofenilamino)-5-cloropirimidinil-4-amino)propil)-4-cianobenzamida;

20 N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-dimetilaminobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-2,4,6-trifluorobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-metoxilbenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-6-cianonicotinamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-hidroxibenzamida;

25 N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-ciano-2-fluorobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-ciano-3-fluorobenzamida;

4-ciano-N-(3-(2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)-5-metilpirimidinil-4-amino)propil)-benzamida;

4-ciano-N-(3-(5-fluoro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)benzamida;

N-(5-(5-cloro-4-(3-(2-(4-cianofenil)acetamino)propilamino)pirimidil-2-amido)-2-fluorofenil)-N-metilacrilóilo;

30 N-(5-(5-cloro-4-(3-(4-cianofenilsulfonamino)propilamino)pirimidil-2-amido)-2-fluorofenil)-N-metilacrilóilo;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-oxo)propil)-4-cianobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-isonicotinamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-etilbenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-metilbenzamida;

35 N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)benzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-3-trifluorometilbenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-3-cianobenzamida;

N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-3-fluoro-4-trifluorometilbenzamida;

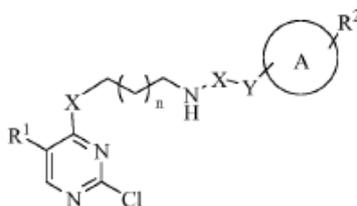
N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-2,3,4,5-tetrafluorobenzamida;

4-acetil-N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)benzamida;

5 N-(3-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)propil)-4-difluorometilbenzamida; y

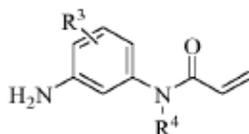
N-(6-(5-cloro-2-(4-fluoro-3-(N-metilacrilamido)fenilamino)pirimidinil-4-amino)hexil)-4-cianobenzamida;

9. Un método para preparar el compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1 que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (IV):



(IV)

10 con un compuesto de fórmula general (V):



(V)

con disolvente orgánico y un catalizador para formar el compuesto de fórmula general (I), en el que:

R¹ es halógeno o alquilo C1-C6;

15 R² es uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por hidrógeno, hidroxilo, ciano, halo, alquilo C1-C6, alcoxi C1-C6, haloalquilo C1-C6, alquilcarbonilo C1-C6 y alquilamino C1-C6;

R³ es hidrógeno o halógeno;

R⁴ es hidrógeno o alquilo C1-C4;

X es NH, O S;

Y es CO o S(O)₂;

20 Z es un enlace covalente, CH₂ o (CH₂)₂;

n es un número entero de 1 a 4; y

el anillo A es un anillo de benceno, un anillo de piridina o un anillo de piperidina.

10. El método de preparación según la reivindicación 9, en el que el catalizador se selecciona del grupo formado por ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico y ácido metanosulfónico.

25 11. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con actividades anormales de quinasas JAK3 y/o JAK1 que comprende el compuesto de fórmula general (I) según la reivindicación 1 como ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable, adyuvante o diluyente.

30 12. El uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, cánceres, enfermedades mieloproliferativas, enfermedades de resorción ósea o enfermedades de injerto contra huésped, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedades alérgicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, leucemia y linfoma.

13. El uso de la composición farmacéutica según la reivindicación 11 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, cánceres, enfermedades mieloproliferativas, enfermedades de resorción ósea y enfermedades de injerto contra huésped, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedades alérgicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, leucemia y linfoma.
- 5

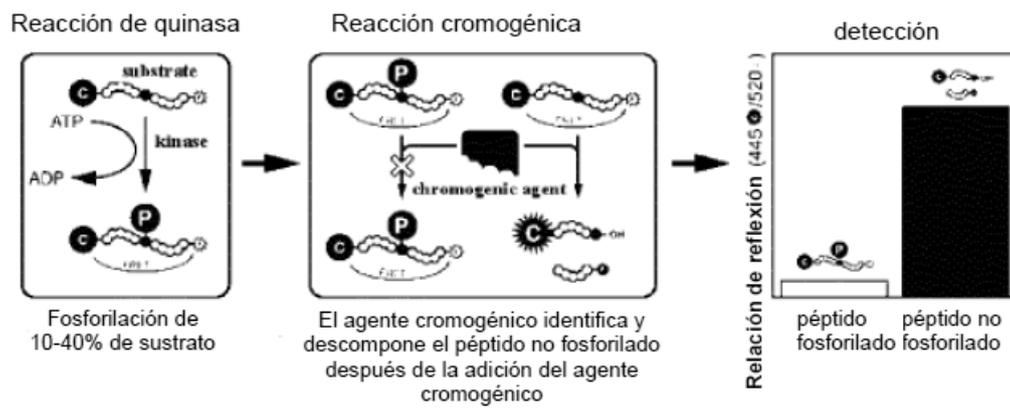


Figura 1