

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 761 406**

51 Int. Cl.:

A61K 31/44 (2006.01)

C07D 491/14 (2006.01)

A61K 31/527 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014** **PCT/US2014/028685**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014** **WO14144326**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014** **E 14762438 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2019** **EP 2968290**

54 Título: **Protección transitoria de células normales durante una quimioterapia**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361798772 P

01.08.2013 US 201361861374 P

03.12.2013 US 201361911354 P

07.03.2014 US 201461949786 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
19.05.2020

73 Titular/es:

G1 THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
79 T.W. Alexander Drive, 4501 Research
Commons, Suite 100
Research Triangle Park, NC 27709, US

72 Inventor/es:

STRUM, JAY, COPELAND;
BISI, JOHN, EMERSON;
ROBERTS, PATRICK, JOSEPH y
TAVARES, FRANCIS, XAVIER

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes

ES 2 761 406 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

Protección transitoria de células normales durante una quimioterapia

5 APLICACIONES RELACIONADAS

10 [0001] Esta solicitud reclama el beneficio de la Solicitud provisional de EE.UU. N° 61/798,772, presentada el 15 de marzo de 2013, Solicitud provisional de EE.UU. N° 61/861,374, presentada el 1 de agosto de 2013, Solicitud provisional de EE.UU. 61/911,354, presentada el 3 de diciembre de 2013, y la solicitud provisional de Estados Unidos N° 61/949,786, presentada el 7 de marzo de 2014.

INTERÉS GUBERNAMENTAL

15 [0002] El Gobierno de Estados Unidos tiene derechos en esta invención en virtud de apoyo bajo la subvención N° 5R44AI084284 otorgada por los Institutos nacionales de alergia y enfermedades infecciosas.

CAMPO DE LA INVENCION

20 [0003] Esta invención es en el área de compuestos mejorados, composiciones y métodos de protección de células transitoriamente saludables, y en particular células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPC) así como células renales, por daños asociados con agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN. En un aspecto, se revela una protección mejorada de las células saludables usando compuestos divulgados que actúan como inhibidores de quinasa 4/6 (CDK 4/6) dependientes de ciclina altamente selectivos y cortos, de acción transitoria cuando se administran a sujetos sometidos a regímenes quimioterapéuticos que dañan el ADN para el tratamiento de trastornos proliferativos.

ANTECEDENTES

30 [0004] La quimioterapia se refiere al uso de fármacos citotóxicos (típicamente dañinos para el ADN) para tratar una variedad de trastornos proliferativos, que incluyen cáncer, tumores, psoriasis, artritis, lupus y esclerosis múltiple, entre otros. Los compuestos quimioterapéuticos tienden a ser inespecíficos y, particularmente a altas dosis, tóxicas para las células normales y de división rápida. Esto a menudo conduce a una variedad de efectos secundarios en pacientes sometidos a quimioterapia.

35 [0005] Supresión de la médula ósea, una reducción grave de la producción de células sanguíneas en la médula ósea, es uno de tales efectos secundarios. Se caracteriza por mielosupresión (anemia, neutropenia, agranulocitosis y trombocitopenia) y linfopenia. La neutropenia se caracteriza por una disminución selectiva en el número de neutrófilos circulantes y una mayor susceptibilidad a las infecciones bacterianas. La anemia, una reducción en el número de glóbulos rojos o eritrocitos, la cantidad de hemoglobina o el volumen de glóbulos rojos empaquetados (caracterizados por una determinación del hematocrito) afecta aproximadamente al 67% de los pacientes con cáncer que reciben quimioterapia en los Estados Unidos. Ver BioWorld Today, página 4, 23 de julio de 2002. La trombocitopenia es una reducción en el número de plaquetas con una mayor susceptibilidad al sangrado. La linfopenia es un efecto secundario común de la quimioterapia caracterizada por una reducción en el número de linfocitos circulantes (también llamadas células T y B). Los pacientes linfopenicos están predispuestos a varios tipos de infecciones.

45 [0006] La mielosupresión continúa representando la principal toxicidad limitante de la dosis de la quimioterapia contra el cáncer, dando como resultado una morbilidad considerable junto con la necesidad potencial de requerir una reducción en la intensidad de la dosis de quimioterapia, lo que puede comprometer el control de la enfermedad y la supervivencia. Evidencia considerable de ensayos clínicos aleatorizados prospectivos y retrospectivos muestra claramente que la mielosupresión inducida por la quimioterapia compromete el control y la supervivencia a largo plazo de la enfermedad (Lyman, GH, Chemotherapy dose intensity and quality cancer care (Oncology (Williston Park), 2006. 20(14 Suppl 9): p. 16-25)). Además, los regímenes de tratamiento para, p. ej., cáncer de pulmón, mama y colorrectal recomendados en las pautas de la Red Nacional Integral del Cáncer se asocian cada vez más con mielosupresión significativa, pero se recomiendan cada vez más para el tratamiento de la enfermedad en etapa temprana, así como la enfermedad en etapa avanzada o metastásica (Smith, RE, Trends in recommendations for myelosuppressive chemotherapy for the treatment of solid tumors. J Natl Compr Canc Netw, 2006. 4(7): p. 649-58). Esta tendencia hacia un tratamiento más intensivo de pacientes con cáncer crea la demanda de mejores medidas para minimizar el riesgo de mielosupresión y complicaciones, al tiempo que optimiza la intensidad relativa de la dosis.

60 [0007] Además de supresión de la médula ósea, los agentes quimioterapéuticos pueden afectar negativamente a otras células sanas tales como células epiteliales renales, resultando potencialmente en el desarrollo de la lesión renal aguda debido a la muerte de los epitelios tubulares. La lesión renal aguda puede provocar enfermedad renal crónica, insuficiencia multiorgánica, sepsis y muerte.

65 [0008] Uno de los mecanismos para reducir al mínimo la mielosupresión, nefrotoxicidad, y otras citotoxicidades quimioterapéuticas es para reducir la intensidad de la dosis prevista de quimioterapias. Sin embargo, las reducciones

de dosis o los retrasos del ciclo disminuyen la efectividad y, en última instancia, comprometen el control y la supervivencia a largo plazo de la enfermedad.

[0009] Las moléculas pequeñas se han utilizado para reducir algunos de los efectos secundarios de ciertos compuestos quimioterapéuticos. Por ejemplo, la leucovorina se ha utilizado para mitigar los efectos del metotrexato en las células de la médula ósea y en las células de la mucosa gastrointestinal. La amifostina se ha utilizado para reducir la incidencia de fiebre y mucositis relacionadas con la neutropenia en pacientes que reciben quimioterapias alquilantes o que contienen platino. Además, el dexrazoxano se ha utilizado para proporcionar cardioprotección a partir de compuestos anticancerígenos de antraciclina. Desafortunadamente, existe la preocupación de que muchos quimioprotectores, como el dexrazoxano y la amifostina, puedan disminuir la eficacia de la quimioterapia administrada concomitantemente.

[0010] Las terapias quimioprotectoras adicionales, en particular con anemia asociada a la quimioterapia y la neutropenia, incluyen el uso de factores de crecimiento. Los factores de crecimiento hematopoyético están disponibles en el mercado como proteínas recombinantes. Estas proteínas incluyen el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y sus derivados para el tratamiento de la neutropenia, y la eritropoyetina (EPO) y sus derivados para el tratamiento de la anemia. Sin embargo, estas proteínas recombinantes son caras. Además, EPO tiene una toxicidad significativa en pacientes con cáncer, lo que lleva a un aumento de la trombosis, recaída y muerte en varios ensayos aleatorizados de gran tamaño. G-CSF y GM-CSF pueden aumentar el riesgo tardío (> 2 años después de la terapia) de trastornos secundarios de la médula ósea como leucemia y mielodisplasia. En consecuencia, su uso está restringido y ya no está disponible para todos los pacientes que lo necesitan. Además, aunque los factores de crecimiento pueden acelerar la recuperación de algunos linajes de células sanguíneas, no existe una terapia para tratar la supresión de plaquetas, macrófagos, células T o células B.

[0011] Roberts et al en 2012 informaron que el compuesto Pfizer PD-0332991 indujo una detención del ciclo celular transitoria en subconjuntos CDK4/6 dependientes de células sanas como HSPCs (véase Roberts et al. Multiple Roles of Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors in Cancer Therapy. JNCI 2012; 104 (6): 476-487). Actualmente, Pfizer está probando este compuesto en ensayos clínicos como un agente antineoplásico contra el cáncer de seno HER2 negativo con estrógenos positivos.

[0012] Las células madre hematopoyéticas dan lugar a células progenitoras que a su vez dan lugar a todos los componentes diferenciados de la sangre como se muestra en la Figura 1 (p. ej., linfocitos, eritrocitos, plaquetas, granulocitos, monocitos). Los HSPC requieren la actividad de CDK4/6 para la proliferación (ver Roberts et al. Multiple Roles of Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors in Cancer Therapy. JNCI 2012;104(6):476-487). En riñones sanos, el epitelio renal con poca frecuencia ingresa al ciclo celular (aproximadamente el 1% de las células epiteliales). Sin embargo, después de una lesión renal, se produce un aumento robusto en la proliferación epitelial (ver Humphreys, BD et al. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. Cell Stem Cell 2, 284-91 (2008)). Es importante destacar que, después de una lesión renal, las células epiteliales renales sobrevivientes se replican para reparar el daño al epitelio tubular renal (ver Humphreys, BD et al. Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors. Proc Natl Acad Sci EE.UU. 108, 9226-31 (2011)). Véase también el documento WO 2010132725 presentado por Sharpless et al.

[0013] Un número de inhibidores de CDK 4/6 han sido identificados, incluyendo pirido[2,3-d]pirimidinas, 2-anilino, ureas diarilo, benzoílo-2,4-diaminotiazoles, indolo[6,7-a]pirrolo[3,4-c]carbazoles y oxindoles específicos (ver PS Sharma, R. Sharma, R. Tyagi, Curr. Cancer Drug Targets 8 (2008) 53-75). El documento WO 03/062236 identifica una serie de 2-(piridina-2-ilamino-pirido[2,3]pirimidina-7-onas para el tratamiento de cánceres Rb positivos que muestran selectividad para CDK4/6, que incluye 6-acetilo-8-ciclopentilo-5-metilo-2-(5-piperazina-1-IL-piridina-2-ilamino)-8H-pirido-[2,3-d]-pirimidina-7-ona (PD0332991). Tasas informadas de neutropenia y leucopenia de grado 3/4 con el uso de PD0332991, lo que resulta en 71% de los pacientes que requieren una interrupción de la dosis y 35% que requieren una reducción de la dosis; y eventos adversos que conducen al 10% de las interrupciones (ver Finn, Resumen S1 -6, SABCS 2012).

[0014] VanderWel et al., describen un pirido contiene yodo[2,3-d]pirimidina-7-ona (CKIA) como un inhibidor potente y selectivo de CDK4 (véase VanderWel et al., J Med. Chem. 48 (2005) 2371-2387).

[0015] El documento WO 99/15500 presentado por Glaxo Group Ltd describe inhibidores de la proteína quinasa y serina/treonina quinasa.

[0016] El documento WO 2010/020675 presentado por Novartis AG describe compuestos de pirrolopirimidina como inhibidores de CDK WO 2011/101409 también presentada por Novartis describe pirrolopirimidinas con actividad inhibidora de CDK 4/6.

[0017] El documento WO 2005/052147 presentado por Novartis y el documento WO 2006/074985 presentado por Janssen Pharma divulgan inhibidores adicionales de CDK4.

[0018] El documento US 2007/0179118 presentado por Barvian et al. enseña el uso de inhibidores de CDK4 para tratar la inflamación.

[0019] El documento WO 2012/061156 presentado por Tavares y asignado a G1 Therapeutics describe inhibidores de CDK. El documento WO 2013/148748 presentado por Tavares y asignado a G1 Therapeutics describe inhibidores de la lactama quinasa.

[0020] La publicación de patente de EE.UU. 2011/0224227 a Sharpless et al. describe el uso de ciertos inhibidores de CDK4/6, como PD0332991 y 2BrIC (ver Zhu, et al., J. Med. Chem., 46 (11) 2027-2030 (2003); PCT/US2009/059281) para reducir o prevenir los efectos de compuestos citotóxicos en HSPC en un sujeto sometido a tratamientos quimioterapéuticos. Véase también la publicación de patente de EE.UU. 2012/0100100.

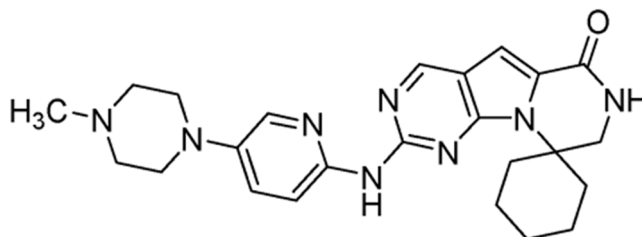
[0021] Stone, et al., Cancer Research 56, 3199-3202 (1 de julio de 1996) describe la detención reversible del ciclo celular mediada por p16 como protección contra la quimioterapia.

[0022] En consecuencia, un objeto de la presente invención proporciona nuevos compuestos, composiciones y métodos para tratar pacientes durante la quimioterapia.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0023] La invención proporciona compuestos para su uso como se expone en las reivindicaciones adjuntas. Se proporcionan compuestos, métodos y composiciones mejoradas para minimizar el efecto de la toxicidad del agente quimioterapéutico sobre las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, como las células madre hematopoyéticas y las células progenitoras hematopoyéticas (denominadas conjuntamente HSPC), y/o células epiteliales renales, en sujetos, típicamente humanos, que estarán, están o han estado expuestos al agente quimioterapéutico (típicamente un agente que daña el ADN).

[0024] Específicamente, se proporciona aquí un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para reducir el efecto de la quimioterapia en células sanas en un sujeto que está siendo tratado para la quinasa dependiente de ciclina 4/6 (CDK4/6) cáncer independiente de replicación o proliferación celular anormal, en donde dichas células sanas son células madre hematopoyéticas, células progenitoras hematopoyéticas o células epiteliales renales, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del compuesto.

[0025] Los compuestos descritos proporcionan una mejor protección de las células sanas dependientes de CDK-replicación durante tratamiento con el agente quimioterapéutico debe, en parte debido a que (i) presentan un efecto corto, transitorio, de detención de G1 (ii) muestran una reentrada rápida, sincronizada en el ciclo celular por las células después del cese del efecto dañino quimioterapéutico. El uso de estos compuestos que detienen G1 transitorios, cortos y específicos de CDK4/6 como quimioprotectores permite, p. ej., una recuperación acelerada del linaje celular, un riesgo reducido de citotoxicidad debido al retraso de la replicación y/o una minimización de la muerte celular inducida por el agente quimioterapéutico.

[0026] A pesar de informes utilizando inhibidores conocidos CDK4/6 tales como 2BrIC y PD0332991 para demostrar quimioprotección, se ha descubierto que estos inhibidores pueden no ser los compuestos más ideales para su uso en estrategias de quiescencia farmacológica (PQ). Por ejemplo, el uso de 2BrIC in vivo está limitado por su biodisponibilidad restringida, y a pesar de la selectividad relativa para CDK4/6 exhibida por PD0332991, el compuesto tiene un efecto intracelular de acción relativamente larga (ver Roberts et al. Multiple Roles of Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors in Cancer Therapy. JCN 2012; 104 (6): 476-487 (Fig. 2A)), extendiendo la transitoriedad de la detención de G1 más allá de lo que puede ser necesario para una protección suficiente contra los tratamientos quimioterapéuticos. Tal efecto de acción prolongada retrasa, p. ej., la proliferación de los linajes celulares HSPC necesarios para reconstituir las líneas celulares hematológicas que se ven afectadas negativamente por los agentes quimioterapéuticos o se eliminan durante su ciclo de vida natural. El arresto G1 de acción prolongada proporcionada por PD0332991 puede limitar su uso como un quimioprotector potencial en sujetos cuyo régimen de tratamiento quimioterapéutico requiere una reentrada rápida en el ciclo celular por HSPC para reconstituir las células eritroides, plaquetarias y mieloides (monocitos y granulocitos) efectuadas adversamente por agentes quimioterapéuticos o

detención aguda de HSPC G1 para limitar los efectos de toxicidad mielosupresora o hematológica. Además, el uso de PD0332991 puede ser limitado como quimioprotector en sujetos expuestos a agentes quimioterapéuticos a intervalos regulares y repetidos, p. ej., en regímenes que se repiten cada varios días, ya que puede limitar la capacidad de los HSPC de estos sujetos para volver a ingresar ciclo celular rápidamente antes de que sea necesario detenerlos nuevamente antes del próximo ciclo quimioterapéutico del sujeto. Con respecto a otros tejidos afectados, p. ej., las células renales, la reanudación oportuna de la proliferación es crítica para la reparación del tejido, p. ej., la reparación del epitelio tubular renal, debido a agentes nefrotóxicos, y por lo tanto, un período excesivamente largo de PQ es indeseable.

[0027] Por lo tanto los métodos aquí descritos incluyen administrar un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz a un huésped en necesidad del mismo, presentando tal compuesto una o cualquier combinación de los siguientes factores que proporcionan un efecto terapéutico mejorado (ya sea solos o en cualquier combinación de los mismos, cada uno de los cuales se considera específicamente e independientemente descrito): i) en donde una parte sustancial de las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 (p. ej., al menos 80% o más) regresan o se aproximan a la actividad del ciclo celular inicial (es decir, vuelva a entrar en el ciclo celular) en menos de 24 horas, 30 horas o 36 horas desde la última administración del compuesto activo en humanos o, p. ej., utilizando un protocolo descrito en los Ejemplos a continuación; ii) en donde una parte sustancial de las células sanas vuelve a entrar en el ciclo celular sincrónicamente en menos de 24 horas, 30 horas o 36 horas desde la última administración del compuesto activo; (iii) en donde la disipación del efecto inhibidor de CDK4/6 del compuesto activo ocurre en menos de 24 horas, 30 horas o 36 horas desde la administración del inhibidor; (iv) en donde el compuesto activo tiene una CI50 para la inhibición de CDK4 y/o CDK6 que es más de 1500 veces menor que su concentración de CI50 para la inhibición de CDK2; (v) en donde una parte sustancial de las células sanas regresa o se aproxima a la actividad del ciclo celular basal previa al tratamiento (es decir, vuelve a entrar en el ciclo celular) en menos de 24 horas, 30 horas o 36 horas desde la disipación del efecto inhibidor de CDK4/6 del compuesto activo; (vi) en donde la actividad del ciclo celular basal previa al tratamiento (es decir, vuelva a entrar en el ciclo celular) en menos de aproximadamente 24 horas, aproximadamente 30 horas o aproximadamente 36 horas desde el punto en que el nivel de concentración del inhibidor CDK4/6 en el sujeto gotas de sangre por debajo de una concentración terapéutica efectiva; o (vii) en donde una porción sustancial de las células sanas vuelve a entrar en el ciclo celular sincrónicamente en menos de 24 horas, 30 horas o 36 horas desde la última administración del agente quimioterapéutico.

[0028] Los compuestos descritos en este documento pueden administrarse al sujeto antes del tratamiento con un agente quimioterapéutico agente, durante el tratamiento con un agente quimioterapéutico, después de la exposición a un agente quimioterapéutico, o una combinación de los mismos. El compuesto descrito en el presente documento se administra típicamente de una manera que permite el acceso fácil del fármaco al torrente sanguíneo, por ejemplo a través de inyección intravenosa o sublingual, intraaortal u otra ruta de acceso eficiente al torrente sanguíneo; sin embargo, se pueden usar por vía oral, tópica, transdérmica, intranasal, intramuscular o por inhalación, como por una solución, suspensión o emulsión, u otras vías administrativas deseadas. En una realización, el compuesto se administra al sujeto menos de aproximadamente 24 horas, 20 horas, 16 horas, 12 horas, 8 horas o 4 horas, 2,5 horas, 2 horas, 1 hora, ½ hora o menos antes del tratamiento con el agente quimioterapéutico. Típicamente, el compuesto activo descrito en el presente documento se administra al sujeto antes del tratamiento con el agente quimioterapéutico de modo que el compuesto alcance niveles séricos máximos antes o durante el tratamiento con el agente quimioterapéutico. En una realización, el compuesto activo se administra de forma concomitante, o estrechamente al mismo, con la exposición al agente quimioterapéutico. Si se desea, el compuesto activo se puede administrar varias veces durante el tratamiento con el agente quimioterapéutico para maximizar la inhibición, especialmente cuando el fármaco quimioterapéutico se administra durante un período prolongado o tiene una vida media prolongada. El compuesto activo descrito en el presente documento puede administrarse después de la exposición al agente quimioterapéutico si se desea para mitigar el daño celular saludable asociado con la exposición al agente quimioterapéutico. En ciertas realizaciones, el compuesto activo se administra hasta aproximadamente ½ hora, hasta aproximadamente 1 hora, hasta aproximadamente 2 horas, hasta aproximadamente 4 horas, hasta aproximadamente 8 horas, hasta aproximadamente 10 horas, hasta aproximadamente 12 horas, hasta aproximadamente 14 horas, hasta aproximadamente 16 horas, o hasta aproximadamente 20 horas o más después de la exposición al agente quimioterapéutico. En una realización particular, el compuesto activo se administra hasta aproximadamente 12 horas y 20 horas después de la exposición al agente quimioterapéutico.

[0029] Los inhibidores CDK4/6 descritos en el presente documento muestran una marcada selectividad para la inhibición de CDK4 y/o CDK6 en comparación con otros CKD, por ejemplo CDK2. Por ejemplo, los inhibidores de CDK4/6 descritos en la presente invención proporcionan un efecto de detención de G1 dependiente de la dosis sobre las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 de un sujeto, por ejemplo HSPC o células epiteliales renales, y los métodos descritos aquí son suficientes para proporcionar quimioprotección a células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 dirigidas durante la exposición al agente quimioterapéutico, p. ej., durante el período de tiempo en que un agente quimioterapéutico que daña el ADN es capaz de producir efectos dañinos de ADN en las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 en el sujeto, al tiempo que permite la reentrada sincrónica y rápida en el ciclo celular por estas células poco después de que el agente quimioterapéutico se disipe debido al efecto inhibidor de CDK4/6 de tiempo limitado proporcionado por los compuestos descritos en este documento en comparación con, p. ej., PD0332991. Asimismo, los inhibidores de CDK4/6 útiles en la presente invención proporcionan un efecto mitigador dependiente de la dosis en células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 que han sido expuestas

a niveles tóxicos de agentes quimioterapéuticos, por ejemplo una sobredosis accidental, que permite la reparación del daño asociado a ADN con la exposición al agente quimioterapéutico y la reentrada sincrónica y rápida en el ciclo celular después de la disipación del efecto inhibidor de CDK4/6 en comparación con, p. ej., PD0332991. En una realización, el uso de un inhibidor de CDK4/6 descrito en el presente documento da como resultado el efecto de detención de G1 sobre las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto que se disipan después de la administración del inhibidor de CDK4/6 para que las células sanas del sujeto regresen a o aborden su actividad de base del ciclo celular previa a la administración en menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas o 40 horas de administración. En una realización, el efecto de detención de G1 se disipa de tal manera que las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto vuelven a su actividad del ciclo celular basal previa a la administración en menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas o 40 horas.

[0030] En una realización, el uso de un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento resulta en que el efecto de detención de G1 disipa de tal manera que las células sanas CDK4/6 dependientes del sujeto vuelven a o se acercan a su ciclo celular línea de base previa a la administración actividad dentro de menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas o 40 horas del efecto del agente quimioterapéutico. En una realización, el efecto de detención de G1 se disipa de tal manera que las células dependientes de la replicación de CDK4/6 del sujeto vuelven a su actividad del ciclo celular basal previa a la administración en menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas o 40 horas, o dentro de aproximadamente 48 horas del cese de la administración del agente quimioterapéutico. En una realización, las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 son HSPC. En una realización, las células sanas dependientes de CDK4/6 son células epiteliales renales.

[0031] En una realización, el uso de un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento resulta en que el efecto de detención de G1 disipa de modo que las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto vuelven a o se acercan a la línea de base de actividad del ciclo celular previa a la administración dentro de menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas, 40 horas o dentro de menos de aproximadamente 48 horas desde el punto en que el nivel de concentración del inhibidor CDK4/6 en la sangre del sujeto cae por debajo de una concentración terapéuticamente efectiva.

[0032] En una realización, los inhibidores CDK4/6 descritos en la presente memoria se utilizan para proteger las células del epitelio renal durante la exposición a un agente quimioterapéutico, p. ej., un agente quimioterapéutico que daña ADN, en donde las células epiteliales renales se impiden de forma transitoria de entrar en la fase S en respuesta al daño inducido por el agente quimioterapéutico del epitelio tubular renal durante no más de aproximadamente 24 horas, aproximadamente 30 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 40 horas o aproximadamente 48 horas desde el punto en que el nivel de concentración del inhibidor CDK4/6 en la sangre del sujeto cae por debajo de una concentración terapéutica efectiva, por el cese del efecto del agente quimioterapéutico, o por la administración de la administración de CDK4/6.

[0033] Los inhibidores de CDK4/6 útiles en los métodos descritos pueden ser sincrónicos en su efecto desactivado, es decir, tras la disipación del efecto de detención G1, las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 expuestas a un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento vuelven a entrar en el ciclo celular de manera similar. Las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 que vuelven a entrar en el ciclo celular lo hacen de modo que la proporción normal de células en G1 y S se restablezca de manera rápida y eficiente, en menos de aproximadamente 24 horas, 30 horas, 36 horas, 40 horas o dentro de aproximadamente 48 horas desde el momento en que el nivel de concentración del inhibidor de CDK4/6 en la sangre del sujeto cae por debajo de una concentración terapéutica efectiva.

[0034] Esto permite ventajosamente que un mayor número de células sanas comience a replicarse tras la disipación de la detención de G1 en comparación con inhibidores asíncronos de CDK4/6 tales como PD0332991.

[0035] Además, la reentrada del ciclo celular sincrónico después de la detención G1 usando un inhibidor de CDK4/6 se describe en el presente documento proporciona la capacidad de tiempo de la administración de factores de crecimiento hematopoyéticos para ayudar en la reconstitución de líneas celulares hematopoyéticas para maximizar el efecto del factor de crecimiento. Como tal, en una realización, el uso de los compuestos o métodos descritos en el presente documento se combina con el uso de factores de crecimiento hematopoyéticos que incluyen, pero no se limitan a, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM)-CSF, trombopoyetina, interleucina (IL)-12, factor de acero y eritropoyetina (EPO), o sus derivados. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra antes de la administración del factor de crecimiento hematopoyético. En una realización, la administración del factor de crecimiento hematopoyético está programada para que el efecto del inhibidor de CDK4/6 sobre HSPC se haya disipado.

[0036] En un aspecto, el uso de un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento permite un régimen de quimio-protector para su uso durante programas de dosificación quimioterapéuticos estándar o regímenes comunes en muchos tratamientos contra el cáncer. Por ejemplo, el inhibidor de CDK4/6 puede administrarse de modo que las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 sean detenidas por G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico en donde, debido a la rápida disipación del efecto de detención de G1 de los compuestos, un número significativo de las células sanas vuelven a entrar en el ciclo celular y son capaces de replicarse poco después de la

exposición al agente quimioterapéutico, p. ej., en menos de aproximadamente 24, 30, 40 o 48 horas, y continúan replicándose hasta la administración del inhibidor CDK4/6 con anticipación del próximo tratamiento quimioterapéutico. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra para permitir el ciclo de las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 entre la detención de G1 y la reentrada en el ciclo celular para acomodar un régimen de tratamiento quimioterapéutico de dosificación repetida, por ejemplo incluyendo, entre otros, un régimen de tratamiento en donde se administra el agente quimioterapéutico: en los días 1-3 cada 21 días; en los días 1-3 cada 28 días; el día 1 cada 3 semanas; el día 1, día 8 y día 15 cada 28 días, el día 1 y día 8 cada 28 días; los días 1 y 8 cada 21 días; en los días 1-5 cada 21 días; 1 día a la semana durante 6-8 semanas; los días 1, 22 y 43; días 1 y 2 semanales; días 1-4 y 22-25; 1-4; 22-25 y 43-46; y regímenes de tipo similares, en donde las células dependientes de la replicación de CDK4/6 son detenidas por G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico y una porción significativa de las células vuelve a entrar en el ciclo celular entre la exposición al agente quimioterapéutico. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 puede administrarse de modo que se permita que las células CDK4/6 dependientes de replicación del sujeto sean detenidas por G1 durante la exposición diaria al agente quimioterapéutico, por ejemplo un régimen quimioterapéutico contiguo de varios días, pero una porción significativa de las células CDK4/6 dependientes de replicación vuelven a entrar en el ciclo celular y se replican entre el tratamiento diario. En una realización, los inhibidores de CDK4/6 pueden administrarse de modo que las células dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto sean detenidas por G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico, p. ej., un régimen contiguo de varios días, pero una porción significativa de células sanas vuelve a entrar en el ciclo celular y la replicación durante los periodos de inactividad antes de la próxima exposición al agente quimioterapéutico. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra de modo que se proporcione la detención de G1 de las células dependientes de la replicación de CDK4/6 de un sujeto durante un régimen de tratamiento de agente quimioterapéutico diario, p. ej., un régimen de tratamiento contiguo de varios días, y las células arrestadas son capaces de reingresar al ciclo celular poco después de que finalice el régimen de varios días. En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón de células pequeñas y el inhibidor de CDK4/6 se administra los días 1, 2 y 3 durante un ciclo de tratamiento de 21 días en donde el agente que daña el ADN administrado se selecciona del grupo que consiste en carboplatino, cisplatino y etopósido, o una combinación de los mismos.

[0037] El sujeto tratado según la presente invención puede ser sometido a quimioterapia terapéutica para el tratamiento de un trastorno proliferativo o de la enfermedad como el cáncer. El cáncer puede caracterizarse por una combinación de aumento de la actividad de la quinasa 1 dependiente de ciclina (CDK1), aumento de la actividad de la quinasa 2 dependiente de ciclina (CDK2), pérdida, deficiencia o ausencia de proteína supresora de tumores de retinoblastoma (Rb) (Rb-nulo), altos niveles de expresión de MYC, aumento de ciclina E1, E2 y aumento de ciclina A. El cáncer puede caracterizarse por una expresión reducida de la proteína supresora de tumores de retinoblastoma o una proteína o proteínas miembros de la familia de retinoblastoma (como, pero no limitado a p107 y p130). En una realización, el sujeto se somete a tratamiento quimioterapéutico para el tratamiento de un cáncer de Rb nulo o deficiente en Rb, que incluye pero no se limita a cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de mama triple negativo, cáncer de cabeza y cuello positivo para VPH, retinoblastoma, cáncer de vejiga negativo para Rb, cáncer de próstata negativo Rb, osteosarcoma o cáncer cervical. En una realización, el cáncer es un cáncer independiente de CDK4/6. La administración del compuesto inhibidor puede permitir que se use una dosis más alta de un agente quimioterapéutico para tratar la enfermedad que la dosis estándar que se usaría de manera segura en ausencia de la administración del compuesto inhibidor CDK4/6.

[0038] El huésped o sujeto, incluyendo un ser humano, puede ser sometido a tratamiento quimioterapéutico de un trastorno proliferativo no maligno, u otra proliferación celular anormal, tal como un tumor, esclerosis múltiple, lupus o artritis.

[0039] Los HSPCs protegidas incluyen las células madre hematopoyéticas, como las células madre hematopoyéticas a largo plazo (LT-HSC) y las células madre hematopoyéticas a corto plazo (ST-HSCs) y células progenitoras hematopoyéticas, incluidos los progenitores multipotentes (MPP), los progenitores mieloides comunes (CMP), los progenitores linfoides comunes (CLP), los progenitores de monocitos granulocíticos (GMP) y los progenitores megacariocitos-eritroides (MEP). La administración del compuesto inhibidor proporciona la inactividad farmacológica transitoria temporal de las células progenitoras hematopoyéticas y/o hematopoyéticas en el sujeto.

[0040] La administración de un inhibidor de CDK4/6 como se describe en el presente documento puede dar como resultado anemia reducida, linfopenia reducida, trombocitopenia reducida o neutropenia reducida en comparación con lo que normalmente se espera después, común después o asociado con el tratamiento con agentes quimioterapéuticos en ausencia de administración del inhibidor de CDK4/6. El uso del inhibidor de CDK4/6 como se describe en este documento da como resultado una recuperación más rápida de la supresión de la médula ósea asociada con el uso a largo plazo de inhibidores de CDK4/6, tales como mielosupresión, anemia, linfopenia, trombocitopenia o neutropenia, después de la interrupción del uso del inhibidor de CDK4/6. En algunas realizaciones, el uso de un inhibidor de CDK4/6 como se describe en el presente documento da como resultado una supresión reducida o limitada de la médula ósea asociada con el uso a largo plazo de inhibidores de CDK4/6, tales como mielosupresión, anemia, linfopenia, trombocitopenia o neutropenia.

[0041] En un aspecto alternativo, un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento puede usarse por sus propiedades anti-cáncer, anti-tumor, o efecto antiproliferativo en combinación con un agente quimioterapéutico para

tratar un cáncer de Rb-negativo o de otra proliferación anormal negativa para Rb. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 descrito aquí proporciona un efecto aditivo o un efecto sinérgico con la actividad anticancerígena o antiproliferativa del quimioterapéutico. Los productos quimioterápicos que se pueden combinar con los inhibidores de CDK4/6 descritos en el presente documento son quimioterapéuticos efectivos o útiles para tratar cánceres sin Rb o proliferación celular anormal. En una realización particular, el uso de un compuesto descrito aquí se combina en un régimen terapéutico con al menos otro agente quimioterapéutico, y puede ser uno que no se base en la proliferación o el avance a través del ciclo celular para la actividad antiproliferativa. Dicho agente puede incluir, entre otros, tamoxifeno, midazolam, letrozol, bortezomib, anastrozol, goserelina, un inhibidor de mTOR, un inhibidor de PI3 quinasa, inhibidores duales de mTOR-PI3K, inhibidores de MEK, inhibidores de RAS, inhibidores de ALK, inhibidores de HSP (p. ej., inhibidores de HSP70 y HSP 90, o una combinación de los mismos), inhibidores de BCL-2, compuestos inductores apoptóticos, inhibidores de AKT, inhibidores de PD-1 o inhibidores de FLT-3, o combinaciones de los mismos. Los ejemplos de inhibidores de mTOR incluyen, entre otros, rapamicina y sus análogos, everolimus (Afinitor), temsirolimus, ridaforolimus, sirolimus y deforolimus. Los ejemplos de inhibidores de la quinasa P13 incluyen, entre otros, Wortmannin, demetoxiviridinaa, perifosina, idelalisib, PX-866, IPI-145 (Infinity), BAY 80-6946, BEZ235, RP6503, TGR 1202 (RP5264), MLN1117 (INK1117), Pictilisib, Buparlisib, SAR245408 (XL147), SAR245409 (XL765), Palomid 529, ZSTK474, PWT33597, RP6530, CUDC-907 y AEZS-136. Ejemplos de los inhibidores de MEK incluyen, pero no se limitan a, tametinib, selumetinib, MEK162, GDC-0973 (XL518) y PD0325901. Los ejemplos de inhibidores de RAS incluyen, entre otros, Reolisina y siG12D LODER. Los ejemplos de inhibidores de ALK incluyen, entre otros, Crizotinib, AP26113 y LDK378. Los inhibidores de HSP incluyen, entre otros, geldanamicina o 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17AAG) y Radicol.

[0042] En ciertas realizaciones, un compuesto descrito en el presente documento se administra al sujeto antes del tratamiento con otro agente quimioterapéutico, durante el tratamiento con otro agente quimioterapéutico, después de la administración de otro agente quimioterapéutico, o una combinación de los mismos.

[0043] En algunas realizaciones, el sujeto o huésped es un mamífero, incluido un ser humano.

[0044] En resumen, la presente invención incluye las siguientes características:

- A. Un compuesto de Fórmula T, y sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la quimioprotección de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC y/o células epiteliales renales, durante una exposición a un agente quimioterapéutico;
- B. Un compuesto de Fórmula T, y sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la quimioprotección de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC y/o células epiteliales renales, durante un régimen quimioterapéutico para el tratamiento de un trastorno proliferativo;
- C. Un compuesto de Fórmula T, y sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la quimioprotección de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC y/o células epiteliales renales, durante un régimen quimioterapéutico para el tratamiento de un cáncer.
- D. Un compuesto de Fórmula T, y sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en combinación con factores de crecimiento hematopoyéticos en un sujeto que estará, está o ha estado expuesto a agentes quimioterapéuticos;
- E. Un compuesto de Fórmula T y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para usar en la quimioprotección de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC y/o células epiteliales renales;
- F. Un compuesto de Fórmula T, y sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la mitigación del daño en el ADN de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC y/o células epiteliales renales, que han sido expuestas a la exposición a agentes quimioterapéuticos;
- G. Una formulación farmacéutica que comprende una cantidad eficaz para el tratamiento del sujeto de un compuesto de Fórmula T, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo para usar en la quimioprotección de células sanas;
- K. Un compuesto de Fórmula T o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en un método de inhibición del crecimiento del de un cáncer Rb negativo o afección proliferativa en donde el método comprende administrar el compuesto en combinación con un quimioterapéutico para proporcionar un aditivo o efecto sinérgico con un quimioterapéutico. En una realización, los inhibidores de CDK4/6 se combinan con un quimioterapéutico seleccionado del grupo que consiste en inhibidores de MEK, inhibidores de quinasa PI3, inhibidores de BCL-2, inhibidores de AKT, compuestos inductores apoptóticos, inhibidores de AKT, inhibidores de PD-1, inhibidores de FLT-3, inhibidores de HSP90 o inhibidores de mTOR, o combinaciones de los mismos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0045]

La FIG. 1 es un dibujo esquemático de hematopoyesis que muestra la proliferación jerárquica de células madre hematopoyéticas sanas (HSC) y células progenitoras hematopoyéticas sanas con una diferenciación creciente tras la proliferación.

FIG. 2A es un gráfico del porcentaje de células en fase G2-M (círculos abiertos), fase S (triángulos), fase G0-G1 (cuadrados), <2N (diamantes) frente a concentración variable (nM) del Compuesto T en tHS68 Células. La línea celular dependiente de Cdk4/6 (tHS68) se trató con las concentraciones indicadas de Compuesto T durante 24 horas. Después del tratamiento del Compuesto T, las células fueron cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, las células tHS68 muestran un arresto G1 limpio acompañado de una disminución correspondiente en el número de células en la fase S.

FIG. 2B es un gráfico del número de células tHS68 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular.

FIG. 2C es un gráfico del número de células WM2664 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular.

FIG. 2D es un gráfico del número de células A2058 (línea celular independiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular.

FIG. 2E es un gráfico del número de células tHS68 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el compuesto T. Las células se trataron con el compuesto T (300 nM) durante 24 horas, cosechado y analizado para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células tHS68 con el Compuesto T causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha).

FIG. 2F es un gráfico del número de células WM2664 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el compuesto T. Las células se trataron con el compuesto T (300 nM) durante 24 horas, cosechado y analizado para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células WM2664 con el Compuesto T causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha).

FIG. 2G es un gráfico del número de células A2058 (línea celular independiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el compuesto T. Las células fueron tratadas con el compuesto T (300 nM) durante 24 horas, cosechado y analizado para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células A2058 con el Compuesto T no causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha).

FIG. 3 es una transferencia Western que muestra los niveles de fosforilación de Rb en Ser807/811 y Ser780 después del tratamiento con Compuesto T. Cdk4/6 dependiente (tHS68 o WM2664) y líneas celulares independientes de Cdk4/6 (A2058) se trataron con Compuesto T (300 nM) para los tiempos indicados (0, 4, 8, 16 y 24 horas). Los niveles de MAPK se muestran como un control para los niveles de proteínas. Después del tratamiento, las células se cosecharon y analizaron para determinar la fosforilación de Rb mediante análisis de transferencia Western. Como se describe en el Ejemplo 153, el tratamiento con el Compuesto T dio como resultado una reducción de la fosforilación de Rb después del tratamiento en líneas celulares dependientes de Cdk4/6 (tHS68 y WM2664), pero no en la línea celular independiente de Cdk4/6 (A2058).

FIG. 4A es un gráfico del porcentaje de células en fase S en una línea celular Rb-positiva (WM2664) o en las líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas Rb-negativas (H345, H69, H209, SHP-77, NCI417 o H82) después del tratamiento con DMSO (barras oscuras) o PD0332991 (barras claras). Las células fueron tratadas con PD0332991 (300 nM) o control DMSO durante 24 horas. La proliferación celular se midió por incorporación de EdU y citometría de flujo. Los datos representan 100.000 eventos celulares para cada tratamiento celular. Como se describe en el Ejemplo 154, la línea celular RB-nulo SCLC era resistente a la inhibición de Cdk4/6, ya que no se observaron cambios en el porcentaje de células en fase S tras el tratamiento con PD0332991.

FIG. 4B es un gráfico del porcentaje de células en fase S en una línea celular Rb-positiva (tHS68) o en las líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas Rb-negativas (H345, H69, SHP-77 o H82) después del tratamiento con DMSO (barras oscuras) o Compuesto GG (barras más claras). Las células fueron tratadas con Compuesto GG (300 nM o 1000 nM) o control DMSO durante 24 horas. La proliferación celular se midió por incorporación de EdU y citometría de flujo. Los datos representan 100.000 eventos celulares para cada tratamiento celular. Como se describe en el Ejemplo 154, la línea celular RB-nulo SCLC era resistente a la inhibición de Cdk4/6, ya que no se observaron cambios en el porcentaje de células en fase S tras el tratamiento con Compuesto GG.

FIG. 4C es un gráfico del porcentaje de células en fase S en una línea celular Rb-positiva (tHS68) o en las líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas Rb-negativas (H345, H209 o SHP-77) después del tratamiento con DMSO (oscuro barras) o Compuesto T (barras más claras). Las células se trataron con Compuesto T (300 nM o 1000 nM) o control DMSO durante 24 horas. La proliferación celular se midió por incorporación de EdU y citometría de flujo. Los datos representan 100.000 eventos celulares para cada tratamiento celular. Como se describe en el Ejemplo 154, la línea celular RB-nulo SCLC fue resistente a la inhibición de Cdk4/6, ya que no cambio en el porcentaje de células en fase S fueron vistos tras el tratamiento con el Compuesto T.

La FIG. 5 es un gráfico de la incorporación de EdU frente al tiempo después de la administración (horas) de PD0332991 a HSPC de ratones sanos y células progenitoras mieloides sanas. PD0332991 (150 mg/kg) se administró por sonda oral para evaluar el efecto temporal de la inhibición transitoria de CDK4/6 en el paro de la médula ósea como se informó en Roberts et al. Múltiples funciones de los inhibidores de la quinasa dependiente de ciclina 4/6 en la terapia del cáncer. JCNi 2012; 104 (6): 476-487 (FIG. 2A). Como se describe en el Ejemplo 156, una dosis oral única de PD0332991 da como resultado una reducción sostenida en la incorporación de EdU de HSPC (círculos; LKS +) y la incorporación de EdU de células progenitoras mieloides (cuadrados; LKS-) durante más de 36 horas.

FIG. 6A es un gráfico de la proporción de incorporación de EdU en HSPC (en comparación con ratones de control no tratados) después de la administración oral de los Compuestos T, Q o GG a 150 mg/kg a las 12 o 24 horas después de la administración.

FIG. 6B es un gráfico del porcentaje de células HSPC positivas para EdU para ratones tratados con el Compuesto T a las 12 o 24 horas. Los ratones se dosificaron con 50 mg/kg (triángulos), 100 mg/kg (cuadrados) o 150 (triángulos invertidos) mg/kg por sonda oral.

FIG. 6C es un gráfico del porcentaje de células HSPC positivas para EdU para ratones tratados con compuesto T (150 mg/kg por sonda oral) a las 12, 24, 36 y 48 horas. Como se describe en el Ejemplo 157, el Compuesto T y GG demostraron una reducción en la incorporación de EdU a las 12 horas, y comenzaron a regresar a los niveles normales de división celular en 24 horas.

FIG. 7 es un gráfico del porcentaje de células HSPC positivas para EdU para ratones tratados con PD0332991 (triángulos) o Compuesto T (triángulos invertidos) v. Tiempo después de la administración (horas) del compuesto. Ambos compuestos se administraron a 150 mg/kg por sonda oral y el porcentaje de células HSPC positivas para EdU se midió a las 12, 24, 36 o 48 horas. Como se describe en el Ejemplo 158, una dosis oral única de PD0332991 da como resultado una reducción sostenida de la proliferación de HSPC durante más de 36 horas. Por el contrario, una dosis oral única del Compuesto T da como resultado una reducción inicial de la proliferación de HSPC a las 12 horas, pero la proliferación de HSPC se reanuda 24 horas después de la dosificación del Compuesto T.

La FIG. 8A es un gráfico del porcentaje de células en la fase G0-G1 del ciclo celular frente al tiempo después del lavado del compuesto (horas) en células de fibroblastos humanos (positivas para Rb).

FIG. 8B es un gráfico del porcentaje de células en la fase S del ciclo celular frente al tiempo después del lavado del compuesto (horas) en células de fibroblastos humanos (positivo para Rb).

FIG. 8C es un gráfico del porcentaje de células en la fase G0-G1 del ciclo celular frente al tiempo después del lavado del compuesto (horas) en células epiteliales del túbulo proximal renal humano (Rb-positivas).

FIG. 8D es un gráfico del porcentaje de células en la fase S del ciclo celular frente al tiempo después del lavado del compuesto (horas) en células epiteliales del túbulo proximal renal humano (positivo para Rb). Estos experimentos de lavado celular demostraron que los compuestos inhibidores de la presente invención tienen un breve efecto transitorio de detención de G1 en diferentes tipos de células. El efecto sobre el ciclo celular después del lavado de los compuestos se determinó a las 24, 36, 40 y 48 horas. Como se describe en el Ejemplo 159, los resultados muestran que las células tratadas con PD0332991 (círculos) tardaron significativamente más en alcanzar los niveles basales de división celular (ver células tratadas solo con DMSO (diamantes)), que las células tratadas con Compuesto T (cuadrados), Compuesto Q (triángulos), Compuesto GG (X) o Compuesto U (X con cruz).

FIG. 9A es un gráfico de la concentración de fármaco en plasma (ng/ml) frente al tiempo después de la administración (horas) del Compuesto T.

La FIG. 9B es un gráfico de la concentración de fármaco en plasma (ng/ml) frente al tiempo después de la administración (horas) del Compuesto Q.

La FIG. 9C es un gráfico de la concentración de fármaco en plasma (ng/ml) frente al tiempo después de la administración (horas) del compuesto GG.

FIG. 9D es un gráfico de la concentración de fármaco en plasma (ng/ml) frente al tiempo después de la administración (horas) del Compuesto U. Los compuestos se dosificaron a ratones a 30 mg/kg por sonda oral (diamantes) o 10 mg/kg por inyección intravenosa (cuadrícula). Se tomaron muestras de sangre a las 0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 y 8,0 horas después de la dosificación y las concentraciones plasmáticas se determinaron por HPLC.

FIG. 10 proporciona la vida media (minutos) del Compuesto T y PD0332991 en microsomas hepáticos humanos y animales (mono, perro, rata y ratón). Como se describe en el Ejemplo 158, PD0332991 tiene una vida media mayor de 60 minutos en cada una de las especies probadas. Se determinó que el compuesto T tenía una vida media más corta que PD0332991 en cada una de las especies probadas.

FIG. 11A es un gráfico de supervivencia celular de células tratadas con etopósido 5uM frente al tratamiento con la cantidad indicada de Compuesto T. Las células supervivientes se determinaron a las 24 horas después del tratamiento. Como se describe en el Ejemplo 162, muestra que el Compuesto T protege a las células tHS68 de la muerte celular inducida por quimioterapia. FIG. 11B es un gráfico de supervivencia celular de células tratadas con carboplatino 100 µM frente al tratamiento con la cantidad indicada de Compuesto T. Las células supervivientes se determinaron a las 24 horas después del tratamiento. Como se describe en el Ejemplo 162, el Compuesto T protege las células tHS68 de la muerte celular inducida por quimioterapia.

FIG. 12A es un gráfico de la actividad relativa de H₂AX frente a la concentración variable de Compuesto T (nM) en células HS68 tratadas con Compuesto T (100 nM, 300 nM o 1000 nM) y quimioterapia (etopósido, doxorubicina, carboplatino, paclitaxel o Las células HS68 dependientes de Cdk4/6 se trataron con las dosis

indicadas de Compuesto T y quimioterapia. Se midió la formación de focos H₂AX para evaluar el daño del ADN inducido por la quimioterapia. Como se describe en el Ejemplo 162, las células tratadas con el Compuesto T y diversos compuestos quimioterapéuticos se protegieron del daño al ADN inducido por la quimioterapia.

FIG. 12B es un gráfico de la actividad relativa de Caspasa 3/7 frente a la concentración variable de Compuesto T (nM) en células HS68 tratadas con Compuesto T (100 nM, 300 nM o 1000 nM) y quimioterapia (etopósido, doxorubicina, carboplatino, paclitaxel o camptotecina). Las células HS68 dependientes de Cdk4/6 se trataron con las dosis indicadas de Compuesto T y quimioterapia. La actividad de caspasa 3/7 se midió para evaluar la apoptosis inducida por quimioterapia. Como se describe en el Ejemplo 162, las células tratadas con el Compuesto T y diversos compuestos quimioterapéuticos se protegieron de la activación de caspasa 3/7 inducida por la quimioterapia.

FIG. 13 es una serie de gráficos de contorno que muestran la proliferación (medida por la incorporación de EdU después de 12 horas) frente al contenido de ADN celular (medido por la tinción DAPI). Las gráficas de contorno representativas muestran proliferación en WBM (médula ósea completa; arriba) y HSPC (células madre hematopoyéticas y células progenitoras; LSK; abajo), medido por la incorporación de EdU después de 12 horas sin tratamiento, solo tratamiento con EdU o EdU más tratamiento con Compuesto T. Como se describe en el Ejemplo 163, el Compuesto T reduce la proliferación de la médula ósea completa y las células madre y/o progenitoras hematopoyéticas.

FIG. 14A es un gráfico del porcentaje de células EdU-positivas en la médula ósea completa (WBM) y varias células madre y progenitoras hematopoyéticas (líneas celulares Lin-, LSK, HSC, MPP o CD28 + LSK) tratadas con el Compuesto T (barras abiertas) o sin tratar (barras sólidas). Como se describe en el Ejemplo 163, el tratamiento con el Compuesto T inhibe la proliferación de WBM y todos los linajes de HSPC probados. * P < 0,05, ** P < 0,01.

FIG. 14B es un gráfico del porcentaje de células EdU-positivas en la médula ósea completa (WBM) y varios progenitores restringidos de linaje (linajes celulares MP, GMP, MEP, CMP o CLP) tratados con Compuesto T (barras abiertas) o sin tratar (sólido barras). Como se describe en el Ejemplo 163, el tratamiento con el Compuesto T inhibe la proliferación de WBM y todos los progenitores restringidos de linaje analizados. * P < 0,05, ** P < 0,01.

FIG. 15A es un gráfico del porcentaje de células EdU-positivas en poblaciones de células T (Total, CD4+, CD8+, DP, DN, DN1, DN2, DN3 o DN4) tratadas con el Compuesto T (barras abiertas) o sin tratar (barras sólidas). Como se describe en el Ejemplo 164, el tratamiento con el Compuesto T inhibe la proliferación de las poblaciones de células T CD4+, CD8+, DP, DN, DN1, DN2, DN3 o DN4. * P < 0,05, ** P < 0,01.

FIG. 15B es un gráfico del porcentaje de células EdU-positivas en poblaciones de células B (B220+, B220 + sIgM+, Pre-pro-B sIgM-, Pro-B, Pre-B) tratadas con Compuesto T (barras abiertas) o sin tratar (barras sólidas). Como se describe en el Ejemplo 164, el tratamiento con el Compuesto T inhibe la proliferación de las diversas poblaciones de células B (B220+, B220 + sIgM+, Pre-proB sIgM-, Pro-B y Pre-B). * P < 0,05, ** P < 0,01.

FIG. 15C es un gráfico del porcentaje de células EdU-positivas en poblaciones de células mieloides (Mac1 + Gr1+, Ter119 + o CD41 +) tratadas con el Compuesto T (barras abiertas) o sin tratar (barras sólidas). Como se describe en el Ejemplo 164, el tratamiento con el Compuesto T inhibe la proliferación de las poblaciones de células mieloides Mac1 + Gr1+, Ter119 + o CD41+. * P < 0,05, ** P < 0,01.

FIG. 16 muestra la evaluación farmacodinámica del Compuesto GG en la médula ósea. Para evaluar el efecto de la inhibición transitoria de CDK4/6 por el Compuesto GG sobre la citotoxicidad inducida por carboplatino en la médula ósea, se trataron ratones FVB/n (n = 3 por grupo) con control de vehículo, 90 mg/kg de carboplatino por inyección intraperitoneal, o 150 mg/kg Compuesto GG por sonda oral más 90 mg/kg de carboplatino por inyección intraperitoneal. 24 horas después del tratamiento, se recolectó la médula ósea y se midió el porcentaje de ciclos de progenitores de médula ósea mediante la incorporación de EdU como se explicó anteriormente.

FIG. 17A es un gráfico de recuentos de células sanguíneas enteras frente al tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados) o control no tratado (círculos). Los ratones de tipo silvestre FVB se trataron con Compuesto T (150 mg/kg) o control de vehículo mediante sonda oral treinta minutos antes de la administración de 5-fluorouracilo (5FU) 150 mg/kg mediante inyección intraperitoneal. Se midieron los recuentos completos de células sanguíneas cada dos días a partir del día seis. Como se describe en el Ejemplo 166, las células sanguíneas completas se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 17B es un gráfico de recuentos de células de neutrófilos frente al tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados), o control no tratado (círculos). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 17A. Como se describe en el Ejemplo 166, los neutrófilos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 17C es un gráfico de recuentos de células de linfocitos versus tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados), o control no tratado (círculos). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 17A. Como se describe en el Ejemplo 166, los linfocitos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 17D es un gráfico de recuentos de células plaquetarias frente al tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados) o control no tratado (círculos). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 17A. Como se describe en el Ejemplo 166, las plaquetas se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 17E es un gráfico de recuentos de glóbulos rojos frente al tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados) o control no tratado (círculos). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 17A. Como se describe en el Ejemplo 166, los glóbulos rojos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 17F es un gráfico del hematocrito (%) frente al tiempo (días) después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU) (triángulos), 5FU más Compuesto T (cuadrados) o control no tratado (círculos). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 17A. Como se describe en el Ejemplo 166, el porcentaje de hematocrito se recupera más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se trata previamente con el Compuesto T.

La FIG 18A es un gráfico de recuentos de células sanguíneas completas 14 días después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU), 5FU más Compuesto T, o control no tratado. Los ratones de tipo silvestre FVB se trataron con Compuesto T (150 mg/kg) o control de vehículo mediante sonda oral treinta minutos antes de la administración de 5-fluorouracilo (5FU) 150 mg/kg mediante inyección intraperitoneal. El recuento completo de células sanguíneas se midió el día 14. Los cuadros representan la distribución del 5%-95%, los bigotes representan los valores mínimos y máximos, y la barra del medio representa la mediana. La prueba t de Student se realizó para calcular los valores de P de dos lados. Como se describe en el Ejemplo 166, las células sanguíneas completas se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG 18B es un gráfico de recuentos de células de neutrófilos 14 días después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU), 5FU más Compuesto T, o control no tratado. Los experimentos se realizaron como se describe en la Figura 18A. Como se describe en el Ejemplo 166, las células de neutrófilos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG 18C es un gráfico de recuentos de células linfocitarias 14 días después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU), 5FU más Compuesto T, o sin tratamiento. controlar. Los experimentos se realizaron como se describe en la Figura 18A. Como se describe en el Ejemplo 166, las células de linfocitos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG 18D es un gráfico de recuentos de glóbulos rojos 14 días después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU), 5FU más Compuesto T, o control no tratado. Los experimentos se realizaron como se describe en la Figura 18A. Como se describe en el Ejemplo 166, los glóbulos rojos se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG 18E es un gráfico de recuentos de células plaquetarias 14 días después de la administración de 5-fluoruracilo (5FU), 5FU más Compuesto T, o control no tratado. Los experimentos se realizaron como se describe en la Figura 18A. Como se describe en el Ejemplo 166, las células plaquetarias se recuperan más rápidamente de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan previamente con el Compuesto T.

La FIG. 19A es un gráfico de células de sangre entera (1000 células/ul) en ratones no tratados (círculos), 5-fluoruracilo (5FU) más ratones tratados con Compuesto T (cuadrados) o ratones tratados con 5-FU (triángulos) en el Ciclo 3, Día 10 (día 52). Los ratones de tipo silvestre FVB se trataron con Compuesto T (150 mg/kg) o control de vehículo por sonda oral treinta minutos antes de la administración de 5-fluorouracilo (5FU) 150 mg/kg por inyección intraperitoneal. Los ratones recibieron 3 ciclos de Compuesto T o control del vehículo + 5FU el día 1 de un ciclo de 21 días. Se midieron los recuentos completos de células sanguíneas el día 10 después de la segunda dosis (52 días después de la primera dosis (ciclo 3, día 10)). Como se describe en el Ejemplo 167, las células sanguíneas completas muestran una recuperación mejorada de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan con varios ciclos de Compuesto T. La FIG. 19B es un gráfico de neutrófilos (1000 células/ul) en ratones no tratados (círculos), 5-fluoruracilo (5FU) más ratones tratados con Compuesto T (cuadrados) o ratones tratados con 5-FU (triángulos) en el Ciclo 3, Día 10 (Día 52). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 19A. Como se describe en el Ejemplo 167, los neutrófilos muestran una recuperación mejorada de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan con varios ciclos de Compuesto T. La FIG. 19C es un gráfico de linfocitos (1000 células/ul) en ratones no tratados (círculos), 5-fluoruracilo (5FU) más ratones tratados con Compuesto T (cuadrados) o ratones tratados con 5-FU (triángulos) en el Ciclo 3, Día 10 (Día 52). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 19A. Como se describe en el Ejemplo 167, los linfocitos muestran una recuperación mejorada de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan con varios ciclos de Compuesto T. La FIG. 19D es un gráfico de glóbulos rojos (1000 células/ul) en ratones no tratados (círculos), 5-fluoruracilo (5FU) más ratones tratados con Compuesto T (cuadrados) o ratones tratados con 5-FU (triángulos) en el Ciclo 3, Día 10 (día 52). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 19A. Como se describe en el Ejemplo 167, los glóbulos rojos muestran una recuperación mejorada de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan con varios ciclos de Compuesto T. La FIG. 19E es un gráfico de plaquetas (1000 células/ul) en ratones no tratados (círculos), 5-fluoruracilo (5FU) más ratones tratados con Compuesto T (cuadrados) o ratones tratados con 5-FU (triángulos) en el Ciclo 3, Día 10 (Día 52). Los experimentos se realizaron como se describe en la Fig. 19A. Como se describe en el Ejemplo 167, los niveles

de plaquetas se elevan en la recuperación de la quimioterapia (5FU) cuando se tratan con varios ciclos de Compuesto T.

La FIG. 20 es un gráfico del porcentaje de células en la fase G2-M (X), la fase S (triángulos), la fase G0-G1 (cuadrados) o <2N (diamantes) frente a la concentración variable (nM) del compuesto T en humanas células del túbulo proximal renal. Las células fueron tratadas con las concentraciones indicadas de Compuesto T durante 24 horas. Después del tratamiento del Compuesto T, las células fueron cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 168, las células del túbulo proximal renal humano muestran un paro de G1 limpio acompañado de una disminución correspondiente en el número de células en la fase S.

FIG. 21 es un gráfico del porcentaje de células en la fase G2-M (X), la fase S (triángulos), la fase G0-G1 (cuadrados) o <2N (diamantes) frente a la concentración variable (nM) del Compuesto T en humanas células del túbulo proximal renal tratadas con DMSO, etopósido o cisplatino. Las células se trataron con las concentraciones indicadas de Compuesto T durante 24 horas en combinación con DMSO, etopósido o cisplatino. Después del tratamiento del Compuesto T, las células fueron cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 169, el tratamiento de las células del túbulo proximal renal humano con el Compuesto T protege estas células del daño inducido por la quimioterapia por etopósido y cisplatino.

FIG. 22 es un gráfico de la actividad relativa de γ -H2AX frente a la concentración variable de Compuesto T (nM) en células del túbulo proximal renal humano tratadas con Compuesto T y quimioterapia (cisplatino). Las células fueron tratadas con las dosis indicadas de Compuesto T (10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM o 1000 nM) y quimioterapia (cisplatino 25 μ M). Se midió la formación de focos γ -H2AX para evaluar el daño del ADN inducido por quimioterapia. Como se describe en el Ejemplo 170, las células tratadas con el Compuesto T estaban protegidas del daño en el ADN inducido por la quimioterapia (cisplatino).

FIG. 23 es un gráfico de activación de caspasa 3/7 (medida por unidades de luz relativas) en células epiteliales del túbulo renal tratadas con las concentraciones indicadas de Compuesto T y DMSO o cisplatino (25 μ M, 50 μ M o 100 μ M). Las células epiteliales del túbulo proximal renal normal se obtuvieron de American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Las células se cultivaron en una incubadora a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en medio basal de células epiteliales renales (ATCC) suplementado con kit de crecimiento de células epiteliales renales (ATCC) en incubadora humidificada a 37°C. Las células fueron tratadas con DMSO o Compuesto T 30 nM, 100 nM, 300 nM o 1 μ M en ausencia o presencia de cisplatino 25, 50 μ M o 100 μ M. La activación de Caspase 3/7 se midió 24 horas después usando el sistema de ensayo Caspase-Glo 3/7 (Promega, Madison, WI) siguiendo las instrucciones del fabricante. Como se describe en el Ejemplo 170, el Compuesto T demostró una reducción dependiente de la dosis en la activación de caspasa 3/7 en estas células.

FIGS. 24-26 ilustran varias realizaciones ejemplares de R² de los compuestos de la divulgación.

Las FIGS. 27A-27C, 28A-D, 29A-29C, 30A-30B y 31A-31F ilustran realizaciones ejemplares de la estructura central de los compuestos de la divulgación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0046] Compuestos mejorados, métodos y composiciones se proporcionan para reducir al mínimo el efecto de toxicidad del agente quimioterapéutico en las células sanas dependientes de replicación CDK4/6, tales como células madre hematopoyéticas y/o células progenitoras hematopoyéticas (denominadas conjuntamente HSPC), y/o células epiteliales renales, en sujetos, típicamente humanos, que estarán expuestos al agente quimioterapéutico (típicamente un agente que daña el ADN).

Definiciones

[0047] A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos usados en esta solicitud, incluyendo la especificación y las reivindicaciones, tienen las definiciones dadas a continuación. Como se usa en la especificación y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. La definición de términos de química estándar se puede encontrar en trabajos de referencia, incluyendo Carey y Sundberg (2007) *Advanced Organic Chemistry* 5ª Ed. Vols. A y B, Springer Science + Business Media LLC, Nueva York. La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química orgánica sintética, espectroscopía de masas, métodos preparativos y analíticos de cromatografía, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología. Los métodos convencionales de química orgánica incluyen los incluidos March's *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6ª edición, MB Smith y J. March, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, 2007.

[0048] El término "alquilo", ya sea solo o dentro de otros términos tales como "haloalquilo" y "alquilamino", abarca radicales lineales o ramificados que tienen de uno a aproximadamente doce átomos de carbono. Los radicales "alquilo inferior" tienen de uno a aproximadamente seis átomos de carbono. Los ejemplos de tales radicales incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isoamilo, hexilo y similares. El término "alquileo" abarca radicales alquilo lineales y ramificados de enlace divalente. Los ejemplos incluyen metileno, etileno, propileno, isopropileno y similares.

[0049] El término "alquenilo" abarca radicales lineales o ramificados que tienen doble al menos un enlace carbono-carbono de dos a aproximadamente doce átomos de carbono. Radicales "alquenilo inferior" que tienen de dos a aproximadamente seis átomos de carbono. Los ejemplos de radicales alquenilo incluyen etenilo, propenilo, alilo, propenilo, butenilo y 4-metilbutenilo. Los términos "alquenilo" y "alquenilo inferior" abarcan radicales que tienen orientaciones "cis" y "trans", o alternativamente, orientaciones "E" y "Z".

[0050] El término "alquinilo" se refiere a radicales lineales o ramificados que tienen un triple enlace al menos un carbono-carbono y que tienen de dos a aproximadamente doce átomos de carbono. Radicales "alquinilo inferior" que tienen de dos a aproximadamente seis átomos de carbono. Los ejemplos de tales radicales incluyen propargilo, butinilo y similares.

[0051] Alquilo, alquenilo, y los radicales alquinilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales tales como halo, hidroxilo, nitro, amino, ciano, haloalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo y similares.

[0052] El término "alquilamino" abarca "N-alquilamino" y "N,N-dialquilamino", donde grupos amino están independientemente sustituidos con uno radical alquilo y con dos radicales alquilo, respectivamente. Los radicales "alquilamino inferior" tienen uno o dos radicales alquilo de uno a seis átomos de carbono unidos a un átomo de nitrógeno. Los radicales alquilamino adecuados pueden ser mono o dialquilamino tales como N-metilamino, N-etilamino, N,N-dimetilamino, N,N-dietilamino y similares.

[0053] El término significa "halo" halógenos tales como flúor, cloro, bromo o yodo.

[0054] El término abarca "haloalquilo" radicales en los que uno cualquiera o más de los átomos de carbono de alquilo está sustituido con uno o más halo como se define anteriormente. Los ejemplos incluyen radicales monohaloalquilo, dihaloalquilo y polihaloalquilo, incluido perhaloalquilo. Un radical monohaloalquilo, p. ej., puede tener un átomo de yodo, bromo, cloro o flúor dentro del radical. Los radicales dihalo y polihaloalquilo pueden tener dos o más de los mismos átomos de halo o una combinación de radicales halo diferentes. "Haloalquilo inferior" abarca radicales que tienen 1-6 átomos de carbono. Los ejemplos de radicales haloalquilo incluyen fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorometilo, diclorometilo, triclorometilo, pentafluoroetilo, heptafluoropropilo, difluoroclorometilo, diclorofluorometilo, difluoroetilo, difluoropropilo, dicloroetilo y dicloroetilo. "Perfluoroalquilo" significa un radical alquilo que tiene todos los átomos de hidrógeno reemplazados por átomos de flúor. Los ejemplos incluyen trifluorometilo y pentafluoroetilo.

[0055] El término "arilo", solo o en combinación, significa un sistema aromático carbocíclico que contiene uno o dos anillos en donde tales anillos pueden estar unidos juntos de una manera fusionada. El término "arilo" abarca radicales aromáticos tales como fenilo, naftilo, indenilo, tetrahidronaftilo e indanilo. El arilo más preferido es fenilo. Dicho grupo "arilo" puede tener 1 o más sustituyentes tales como alquilo inferior, hidroxilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, alcoxi, alquilamino inferior y similares. Un grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales tales como halo, hidroxilo, nitro, amino, ciano, haloalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo y similares.

[0056] El término "heterociclilo" (o "heterociclo") abraza saturado, y que contienen heteroátomos, parcialmente saturado radicales de anillo, donde los heteroátomos pueden seleccionarse de nitrógeno, azufre y oxígeno. Los anillos heterocíclicos comprenden anillos monocíclicos de 6 a 8 miembros, así como sistemas de anillos bicíclicos de 5 a 16 miembros (que pueden incluir sistemas de anillos bicíclicos fusionados en espiro y fusionados en espiro). No incluye anillos que contienen porciones -O-O-.-O-S- o -S-S-. Dicho grupo "heterociclilo" puede tener 1 a 3 sustituyentes tales como hidroxilo, Boc, halo, haloalquilo, ciano, alquilo inferior, aralquilo inferior, oxo, alcoxi inferior, amino, alquilamino inferior y similares.

[0057] Los ejemplos de grupos heterociclo saturados incluyen grupos heteromonocíclicos saturados de 3 a 6 miembros que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno [p. ej., pirrolidinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, pirrolinilo, piperazinilo]; grupo heteromonocíclico saturado de 3 a 6 miembros que contiene 1 a 2 átomos de oxígeno y 1 a 3 átomos de nitrógeno [p. ej., morfolinilo]; grupo heteromonocíclico saturado de 3 a 6 miembros que contiene 1 a 2 átomos de azufre y 1 a 3 átomos de nitrógeno [p. ej., tiazolidinilo]. Los ejemplos de radicales heterociclilo parcialmente saturados incluyen dihidrotienilo, dihidropiranilo, dihidrofurilo, dihidrotiazolilo y similares.

[0058] Los ejemplos particulares de grupos heterociclo parcialmente saturados y saturados incluyen pirrolidinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, pirrolinilo, pirazolidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tetrahidropiranilo, tiazolidinilo, dihidrotienilo, 2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxanilo, indolinilo, isoindolinilo, dihidrobenzotienilo, dihidrobenzofurilo, isocromanilo, cromanilo, 1,2-dihidroquinolilo, 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolilo, 1,2,3,4-tetrahidro-quinolilo, 2,3,4,4a, 9,9a-hexahidro-1H-3-aza-fluorenilo, 5,6,7-trihidro-1,2,4-triazolo[3,4-a]isoquinolilo, 3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazinilo, benzo[1,4]dioxanilo, 2,3-dihidro-1H-1λ'-benzo[d]isotiazol-6-ilo, dihidropiranilo, dihidrofurilo y dihidrotiazolilo, y similares.

[0059] Los grupos heterociclo también incluye radicales en los que radicales heterocíclicos están fusionados/fusionados con radicales arilo: grupo heterocíclico fusionado insaturado que contiene de 1 a 5 átomos de

nitrógeno, p. ej., indolilo, isoindolilo, indolizínilo, benzimidazolilo, quinolilo, isoquinolilo, indazolilo, benzotriazolilo, tetrazolopiridazinilo [p. ej., tetrazolo[1,5-b]piridazinilo]; grupo heterocíclico fusionado insaturado que contiene 1 a 2 átomos de oxígeno y 1 a 3 átomos de nitrógeno [p. ej., benzoxazolilo, benzoxadiazolilo]; grupo heterocíclico fusionado insaturado que contiene 1 a 2 átomos de azufre y 1 a 3 átomos de nitrógeno [p. ej., benzotiazolilo, benzotiadiazolilo]; y grupo heterocíclico fusionado saturado, parcialmente insaturado e insaturado que contiene 1 a 2 átomos de oxígeno o azufre [p. ej., benzofurilo, benzotienilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo y dihidrobenzofurilo].

[0060] El término "heteroarilo" significa sistemas de anillos de arilo que contienen uno o más heteroátomos seleccionados del grupo O, N y S, en donde el átomo de nitrógeno y átomo de azufre está opcionalmente oxidado, y el átomo de nitrógeno está opcionalmente cuaternizado. Los ejemplos incluyen un grupo heteromonociclilo insaturado de 5 a 6 miembros que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno, p. ej., pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, triazolilo [p. ej., 4H-1,2,4-triazolilo, 1H-1,2,3-triazolilo, 2H-1,2,3-triazolilo]; grupo heteromonocíclico de 5 a 6 miembros insaturado que contiene un átomo de oxígeno, p. ej., piranilo, 2-furilo, 3-furilo, etc.; grupo heteromonocíclico insaturado de 5 a 6 miembros que contiene un átomo de azufre, p. ej., 2-tienilo, 3-tienilo, etc.; grupo heteromonocíclico insaturado de 5 a 6 miembros que contiene 1 a 2 átomos de oxígeno y 1 a 3 átomos de nitrógeno, p. ej., oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo [p. ej., 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo]; grupo heteromonocíclico insaturado de 5 a 6 miembros que contiene 1 a 2 átomos de azufre y 1 a 3 átomos de nitrógeno, p. ej., tiazolilo, tiadiazolilo [p. ej., 1,2,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo].

[0061] El término "heteroarilalquilo" denota radicales alquilo sustituidos con un grupo heteroarilo. Los ejemplos incluyen piridilmetilo y tieniletilo.

[0062] El término "sulfonilo", utilizado solo o unido a otros términos tales como alquilsulfonilo, denota respectivamente radicales divalentes $\text{-SO}_2\text{-}$.

[0063] Los términos "carboxi" o "carboxilo", utilizado solo o con otros términos, tales como "carboxialquilo", se refiere a -C(O)-OH .

[0064] El término "carbonilo", ya se use solo o con otros términos, tales como "aminocarbonilo", se refiere a -C(O)- .

[0065] El término "aminocarbonilo" indica un grupo amida de la fórmula -C(O)-NH_2 .

[0066] Los términos "heterocicloalquilo" abarca heterocíclico-alquilo sustituido radicales. Los ejemplos incluyen piperidilmetilo y morfoliniletilo.

[0067] El término abarca "arilalquilo" arilo-alquilo sustituido radicales. Los ejemplos incluyen bencilo, difenilmetilo y feniletilo. El arilo en dicho arilalquilo puede estar adicionalmente sustituido con halo, alquilo, alcoxi, haloalquilo y haloalcoxi.

[0068] El término "cicloalquilo" incluye grupos carbocíclicos de 3 a 10 carbonos saturado. Grupos cicloalquilo inferior incluyen $\text{C}_3\text{-C}_6$ anillos. Los ejemplos incluyen ciclopentilo, ciclopropilo y ciclohexilo. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales tales como halo, hidroxilo, nitro, amino, ciano, haloalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo y similares.

[0069] El término abarca "cicloalquilalquilo" cicloalquilo-alquilo sustituido radicales. Los radicales "cicloalquilalquilo inferior" son radicales cicloalquilo unidos a radicales alquilo que tienen de uno a seis átomos de carbono. Los ejemplos incluyen ciclohexilmetilo. El cicloalquilo en dichos radicales puede estar adicionalmente sustituido con halo, alquilo, alcoxi e hidroxilo.

[0070] El término "cicloalquenilo" incluye grupos carbocíclicos que tienen dobles enlaces de uno o más carbonos-carbono que incluyen compuestos "cicloalquildienilo". Los ejemplos incluyen ciclopentenilo, ciclopentadienilo, ciclohexenilo y cicloheptadienilo.

[0071] El término "que comprende" está destinado a ser de extremos abiertos, incluyendo el componente indicado pero sin excluir otros elementos.

[0072] El término "oxo" como se usa en este documento contempla un átomo de oxígeno unido con un enlace doble.

[0073] El término "nitro" como se usa en este documento contempla -NO_2 .

[0074] El término "ciano", como se usa en este documento contempla -CN .

[0075] Tal como se utiliza aquí, el término "profármaco" significa un compuesto que cuando se administra a un huésped *in vivo* se convierte en el fármaco original. Como se usa en el presente documento, el término "fármaco original" se refiere a cualquiera de los compuestos químicos descritos actualmente que son útiles para tratar cualquiera de los trastornos descritos en este documento, o para controlar o mejorar la causa subyacente o los síntomas asociados con

cualquier trastorno fisiológico o patológico descrito en este documento en un anfitrión, típicamente un humano. Los profármacos se pueden usar para lograr cualquier efecto deseado, incluso para mejorar las propiedades del fármaco original o para mejorar las propiedades farmacéuticas o farmacocinéticas del padre. Existen estrategias de profármacos que proporcionan opciones para modular las condiciones para la generación *in vivo* del fármaco original, todas las cuales se consideran incluidas en este documento. Los ejemplos no limitantes de estrategias de profármacos incluyen la unión covalente de grupos removibles, o porciones removibles de grupos, p. ej., pero no se limitan a acilación, fosforilación, fosfonilación, derivados de fosforamidato, amidación, reducción, oxidación, esterificación, alquilación, otros derivados de carboxilo, sulfoxi o derivados de sulfona, carbonilación o anhídrido, entre otros.

[0076] En toda la memoria y las reivindicaciones, una fórmula o nombre químico dado abarcarán todas las ópticas y estereoisómeros, así como mezclas racémicas en las que existen tales isómeros y mezclas, a menos que se indique lo contrario.

[0077] En algunas realizaciones, a/célula sana depende 6-replicación CDK4 es una célula progenitora madre hematopoyéticas. Las células madre hematopoyéticas y progenitoras incluyen, entre otras, células madre hematopoyéticas a largo plazo (LT-HSC), células madre hematopoyéticas a corto plazo (ST-HSC), progenitores multipotentes (MPP), progenitores mieloides comunes (CMP), linfoides comunes progenitores (CLP), progenitores de granulocitos-monocitos (GMP) y progenitores de megacariocitos-eritroides (MEP). En algunas realizaciones, la célula sana dependiente de replicación de CDK4/6 puede ser una célula en un tejido no hematopoyético, tal como, pero sin limitación, el hígado, riñón, páncreas, cerebro, pulmón, glándulas suprarrenales, intestino, estómago, piel, sistema auditivo, hueso, vejiga, ovarios, útero, testículos, vesícula biliar, tiroides, corazón, islotes pancreáticos, vasos sanguíneos y similares. En algunas realizaciones, la célula sana dependiente de la replicación de CDK4/6 es una célula renal, y en particular una célula epitelial renal, p. ej., una célula epitelial del túbulo proximal renal. En algunas realizaciones, una célula sana dependiente de replicación de CDK4/6 es una célula progenitora madre hematopoyética. En algunas realizaciones, la célula sana dependiente de replicación de CDK4/6 puede ser una célula en un tejido no hematopoyético, tal como, pero sin limitación, hígado, riñón, páncreas, cerebro, pulmón, glándulas suprarrenales, intestino, estómago, piel, sistema auditivo, hueso, vejiga, ovarios, útero, testículos, vesícula biliar, tiroides, corazón, islotes pancreáticos, vasos sanguíneos y similares.

[0078] El término "inhibidor de CDK4/6 selectivo" que se utiliza en el contexto de los compuestos descritos en el presente documento incluye compuestos que inhiben la actividad de CDK4, actividad CDK6, o tanto la actividad de CDK4 como CDK6 en una concentración CI_{50} molar de al menos aproximadamente 500, o 1000, o 1500, o 1800, 2000, 5000 o 10.000 veces menor que la concentración CI_{50} molar necesaria inhiben en el mismo grado de actividad de CDK2 en un ensayo de fosforilación estándar.

[0079] Por "induce G1-detención" se entiende que el compuesto inhibidor induce un estado de reposo en una parte sustancial de una población celular en la fase G1 del ciclo celular.

[0080] Por "deficiencia hematológica" se entiende recuentos de linaje celular hematológicos reducidos o la producción insuficiente de células sanguíneas (es decir, mielodisplasia) y/o linfocitos (es decir, linfopenia, la reducción en el número de linfocitos circulantes, tales como células B y T). La deficiencia hematológica se puede observar, p. ej., como mielosupresión en forma de anemia, reducción en el recuento de plaquetas (es decir, trombocitopenia), reducción en el recuento de glóbulos blancos (es decir, leucopenia) o la reducción en los granulocitos (p. ej., neutropenia).

[0081] Por "reentrada sincrónica en el ciclo celular" se entiende que células sanas dependientes de replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPCs, en G1-arresto debido al efecto de un compuesto inhibidor de CDK4/6, vuelven a introducirse en el ciclo celular dentro de relativamente el mismo marco de tiempo colectivo o relativamente a la misma velocidad tras la disipación del efecto del compuesto. Comparativamente, por "reentrada asincrónica en el ciclo celular" se entiende que las células sanas, por ejemplo HSPC, en detención G1 debido al efecto de un compuesto inhibidor de CDK4/6 dentro de marcos de tiempo colectivos relativamente diferentes o en tasas relativamente diferentes tras la disipación del efecto de compuesto como PD0332991.

[0082] Por "fuera de ciclo" o "descanso del fármaco" se entiende un período de tiempo durante el cual el sujeto no se administra o se expone a un agente quimioterapéutico. Por ejemplo, en un régimen de tratamiento en donde al sujeto se le administra la quimioterapia durante 21 días consecutivos y no se le administra la quimioterapia durante 7 días, y el régimen se repite varias veces, el período de 7 días de no administración se considera "fuera de ciclo" o "descanso del fármaco". Fuera de la diana y descanso del fármaco también pueden referirse a una interrupción en un régimen de tratamiento en donde el sujeto no recibe la quimioterapia durante un tiempo debido a un efecto secundario perjudicial, p. ej., mielosupresión.

[0083] El sujeto tratado es típicamente un sujeto humano, aunque se ha de entender los métodos descritos en este documento son eficaces con respecto a otros animales, tales como mamíferos y especies de vertebrados. Más particularmente, el término sujeto puede incluir animales usados en ensayos tales como aquellos usados en pruebas preclínicas que incluyen, pero no se limitan a ratones, ratas, monos, perros, cerdos y conejos; así como porcinos domesticados (cerdos), rumiantes, equinos, aves de corral, felinos, bovinos, murinos, caninos y similares.

[0084] Por "parte sustancial" o "porción significativa" se entiende al menos 80%. En realizaciones alternativas, la porción puede ser al menos 85%, 90% o 95% o mayor.

[0085] En algunas realizaciones, el término "Cáncer independiente de replicación de CDK4/6" se refiere a un cáncer que no requiere de manera significativa la actividad de CDK4/6 para la replicación. Los cánceres de este tipo a menudo, pero no siempre, se caracterizan por (p. ej., que tienen células que exhiben) un mayor nivel de actividad de CDK2 o por una expresión reducida de la proteína supresora de tumores de retinoblastoma o proteínas de los miembros de la familia de retinoblastoma, como, pero no limitado a p107 y p130. El nivel aumentado de actividad de CDK2 o la expresión reducida o deficiente de la proteína supresora de tumores de retinoblastoma o la proteína o proteínas de los miembros de la familia del retinoblastoma se pueden aumentar o reducir, p. ej., en comparación con las células normales. En algunas realizaciones, el nivel incrementado de actividad de CDK2 puede estar asociado con (p. ej., puede resultar de u observarse junto con) la amplificación o sobreexpresión de protooncogén MYC. En algunas realizaciones, el aumento del nivel de la actividad CDK2 puede estar asociado con la sobreexpresión de la ciclina E1, la ciclina E2, o ciclina A.

[0086] Tal como se utiliza aquí, el término "quimioterapia" o "agente quimioterapéutico" se refiere al tratamiento con un citostático o citotóxico agente (es decir, un compuesto) para reducir o eliminar el crecimiento o la proliferación de células indeseables, p. ej., células cancerosas. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, "quimioterapia" o "agente quimioterapéutico" se refiere a un agente citotóxico o citostático usado para tratar un trastorno proliferativo, por ejemplo cáncer. El efecto citotóxico del agente puede ser, pero no se requiere que sea, el resultado de uno o más de la intercalación o unión de ácidos nucleicos, la alquilación de ADN o ARN, la inhibición de la síntesis de ARN o ADN, la inhibición de otra actividad relacionada con el ácido nucleico (p. ej., síntesis de proteínas) o cualquier otro efecto citotóxico.

[0087] Por lo tanto, un "agente citotóxico" puede ser uno cualquiera o cualquier combinación de compuestos también descritos como "agentes antineoplásicos" o "agentes quimioterapéuticos." Dichos compuestos incluyen, entre otros, compuestos que dañan el ADN y otras sustancias químicas que pueden matar células. Los "agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN" incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes, intercaladores de ADN, inhibidores de síntesis de proteínas, inhibidores de síntesis de ADN o ARN, análogos de bases de ADN, inhibidores de topoisomerasa e inhibidores de telomerasa o compuestos de unión de ADN teloméricos. Por ejemplo, los agentes alquilantes incluyen alquilsulfonatos, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodizepa, carboquona, meturedpa y uredepa; etileniminas y metilmelaminas, tales como altretamina, trietilenomelamina, trietilenfosforamida, trietilentioposforamida y trimetilolmelamina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clomafazina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembicina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida y mostaza de uracilo; y nitroso ureas, como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina.

[0088] Los antibióticos utilizados en el tratamiento del cáncer incluyen dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina, sulfato de bleomicina, mitomicina, plicamicina y estreptozocina. Los antimetabolitos quimioterapéuticos incluyen mercaptopurina, tioguanina, cladribina, fosfato de fludarabina, fluorouracilo (5-FU), floxuridina, citarabina, pentostatina, metotrexato y azatioprina, aciclovir, adenina β -1-D-arabinosida, amatopterina, aminopterina, aminopterina, aminopterina, 8-azaguanina, azaserina, 6-azauracilo, 2'-azido-2'-desoxinucleósidos, 5-bromodesoxicitidina, citosina β -1-D-arabinósido, diazoxinorleucina, didesoxinucleósidos, 5-fluorodesoxicitidina, 5-fluorodeoxiurina, hidrocloreuro de poliuretano, 5-fluorodesoxiurina

[0089] Inhibidores de la síntesis de proteína quimioterapéutica incluyen abrina, ácido aurintricarboxílico, cloranfenicol, colicina E3, cicloheximida, toxina de la difteria, edeina A, emetina, eritromicina, etionina, fluoruro, ácido 5-fluorotriptófano, fusídico, guanililo metileno difosfonato y guanililo imidodifosfato, kanamicina, kasugamicina, kirromicina y O-metil treonina. Los inhibidores adicionales de la síntesis de proteínas incluyen modeccina, neomicina, norvalina, pactamicina, paromomicina, puromicina, ricina, toxina shiga, showdomicina, esparsomicina, espectinomicina, estreptomycin, tetraciclina, tiostrepton y trimetoprima. Los inhibidores de la síntesis de ADN incluyen agentes alquilantes tales como sulfato de dimetilo, mitomicina C, mostazas de nitrógeno y azufre; agentes intercalantes, tales como tintes de acridina, actinomicinas, adriamicina, antracenos, benzopireno, bromuro de etidio, entrelazado de diioduro de propidio; y otros agentes, tales como distamicina y netropsina. Inhibidores de la topoisomerasa, tales como coumermicina, ácido nalidixico, novobiocina y ácido oxolínico; inhibidores de la división celular, que incluyen colcemida, colchicina, vinblastina y vincristina; y los inhibidores de la síntesis de ARN, que incluyen actinomicina D, α -amanitina y otras amatoxinas fúngicas, cordicepina (3'-desoxiadenosina), diclororibofuranosilo benzimidazol, rifampicina, estreptovaricina y estreptolidigina también pueden usarse como compuestos dañinos para el ADN.

[0090] Los agentes quimioterapéuticos actuales cuyos efectos tóxicos pueden ser mitigados por los inhibidores CDK4/6 selectivos descritos actualmente incluyen, pero no se limitan a, adriamicina, 5-fluorouracilo (5FU), 6-mercaptopurina, gemcitabina, melfalán, clorambucilo, mitomicina, irinotecan, mitoxantrona, etopósido, camptotecina, actinomicina-D, mitomicina, cisplatino, peróxido de hidrógeno, carboplatino, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, busulfán, nitrosurea, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina,

bleomicina, plicomicina, tamoxifeno, taxol, transplatino, vinblastina, vinblastin, carmustina, citarabina, mecloretamina, clorambucilo, estreptozocina, lomustina, temozolomida, tiotepa, altretamina, oxaliplatino, campotecina y metotrexato, y similares, y agentes similares de acción. En una realización, el agente quimioterapéutico que daña el ADN se selecciona del grupo que consiste en cisplatino, carbo platino, campotecina, doxorubicina y etopósido.

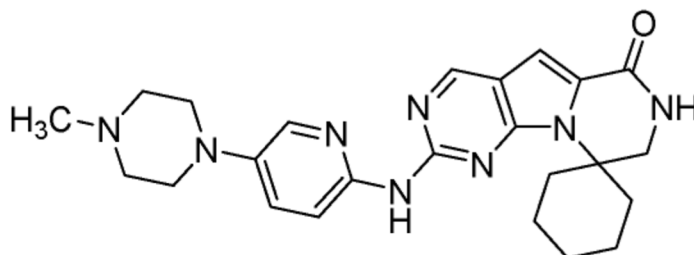
[0091] En ciertas realizaciones alternativas, los inhibidores de CDK4/6 descritos en este documento se utilizan para un anti-cáncer o efecto antiproliferativo en combinación con un agente quimioterapéutico para tratar una CDK4/6 replicación independiente, tal como un Rb-negativa, cáncer o trastorno proliferativo. Los inhibidores de CDK4/6 descritos en este documento pueden proporcionar un efecto aditivo o sinérgico al quimioterapéutico, dando como resultado un mayor efecto anticancerígeno que el que se observa con el uso del quimioterapéutico solo. En una realización, los inhibidores de CDK4/6 descritos en este documento pueden combinarse con uno o más de los compuestos quimioterapéuticos descritos anteriormente. En una realización, un inhibidor de CDK4/6 descrito en el presente documento puede combinarse con un quimioterapéutico seleccionado de, pero sin limitación, tamoxifeno, midazolam, letrozol, bortezomib, anastrozol, goserelina, un inhibidor de mTOR, un inhibidor de PI3 quinasa, inhibidores duales mTOR-PI3K, inhibidores MEK, inhibidores RAS, inhibidores ALK, inhibidores HSP (p. ej., inhibidores HSP70 y HSP 90, o una combinación de los mismos), inhibidores BCL-2, compuestos inductores apoptóticos, inhibidores AKT, incluidos, entre otros a, MK-2206, GSK690693, Perifosina, (KRX-0401), GDC-0068, Triciribina, AZD5363, Honokiol, PF-04691502 y Miltefosina, inhibidores de PD-1 que incluyen, entre otros, Nivolumab, CT-011, MK -3475, BMS936558 y los inhibidores AMP-514 o FLT-3, que incluyen, entre otros, P406, Dovitinib, Quizartinib (AC220), Amuvatinib (MP-470), Tandutinib (MLN₅18), ENMD-2076 y KW-2449, o combinaciones de los mismos. Los ejemplos de inhibidores de mTOR incluyen, entre otros, rapamicina y sus análogos, everolimus (Afinitor), temsirolimus, ridaforolimus, sirolimus y deforolimus. Los ejemplos de inhibidores de la quinasa P13 incluyen, entre otros, Wortmannin, demetoxiviridina, perifosina, idelalisib, PX-866, IPI-145 (Infinity), BAY 80-6946, BEZ235, RP6503, TGR 1202 (RP5264), MLN1117 (INK1117), Pictilisib, Buparlisib, SAR245408 (XL147), SAR245409 (XL765), Palomid 529, ZSTK474, PWT33597, RP6530, CUDC-907 y AEZS-136. Los ejemplos de inhibidores de MEK incluyen, entre otros, Tametinib, Selumetinib, MEK162, GK162, GK162 -0973 (XL518) y PD0325901. Los ejemplos de inhibidores de RAS incluyen, entre otros, Reolisina y siG12D LODER. Los ejemplos de inhibidores de ALK incluyen, entre otros, Crizotinib, AP26113 y LDK378. Los inhibidores de HSP incluyen, entre otros, Geldanamicina o 17-N-Alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17AAG) y Radicol.

[0092] En una realización, un inhibidor de CDK4/6 describe en este documento puede combinarse con un agente quimioterapéutico seleccionado de, entre otros, mesilato de imatinib (Gleevec®), Dasatinib (Sprycel®), Nilotinib (Tasigna®), Bosutinib (Bosulif®), Trastuzumab (Herceptin®), Pertuzumab (Perjeta™), Lapatinib (Tykerb®), Gefitinib (Iressa®), Erlotinib (Tarceva®), Cetuximab (Erbix®), Panitumumab (Vectibix®), Vandetanib (Caprelsa®), Vemurafenib (Zelboraf®), Vorinostat (Zolinza®), Romidepsin (Istodax®), Betoarote®, Bexarote®, Bexarx® Tagretin®, Alitretinoin (Panretin®), Tretinoin (Vesanoid®), Carfilizomib (Kyprolis™), Pralatrexate (Foloty®), Bevacizumab (Avastin®), Ziv-aflibercept (Zaltrap®), Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Suitinib (Su ®), Pazopanib (Votrient®), Regorafenib (Stivarga®) y Cabozantinib (Cometriq™).

[0093] Por "toxicidad hematológica a largo plazo" se entiende la toxicidad hematológica que afecta a un sujeto durante un periodo que dura más de una o más semanas, meses o años después de la administración de un agente quimioterapéutico. La toxicidad hematológica a largo plazo puede provocar trastornos de la médula ósea que pueden causar la producción ineficaz de células sanguíneas (es decir, mielodisplasia) y/o linfocitos (es decir, linfopenia, la reducción en el número de linfocitos circulantes, como células B y T). La toxicidad hematológica se puede observar, p. ej., como anemia, reducción en el recuento de plaquetas (es decir, trombocitopenia) o reducción en el recuento de glóbulos blancos (es decir, neutropenia). En algunos casos, la mielodisplasia puede provocar el desarrollo de leucemia. La toxicidad a largo plazo relacionada con los agentes quimioterapéuticos también puede dañar otras células autorregenerativas en un sujeto, además de las células hematológicas. Por lo tanto, la toxicidad a largo plazo también puede provocar canas y fragilidad.

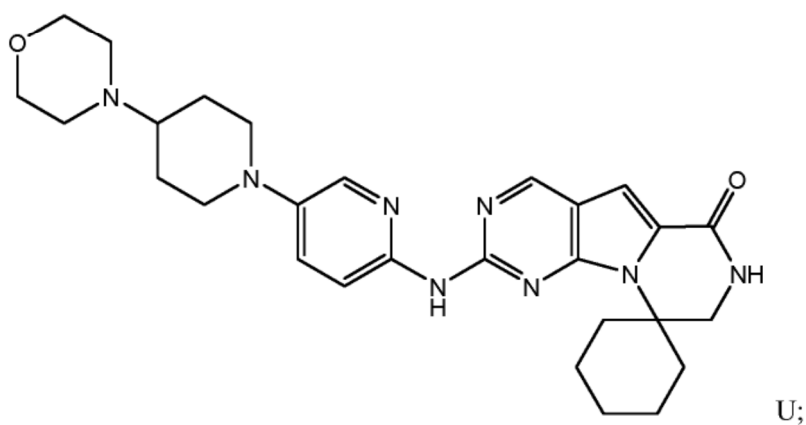
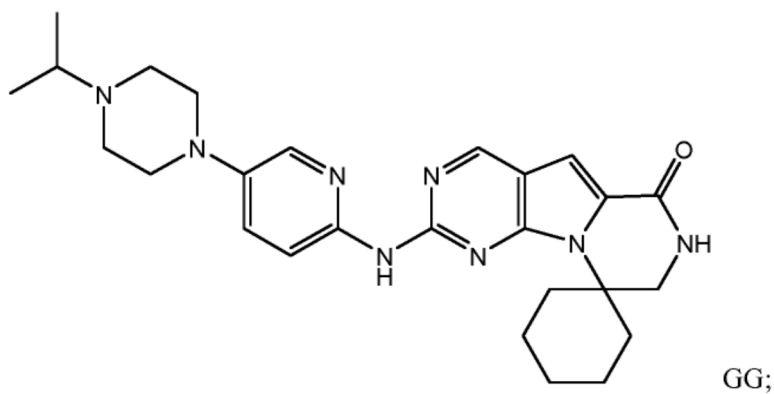
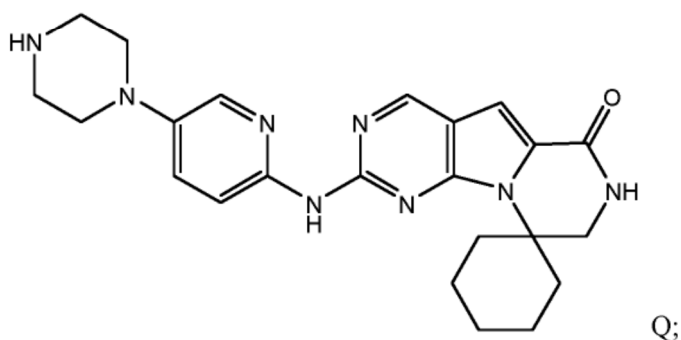
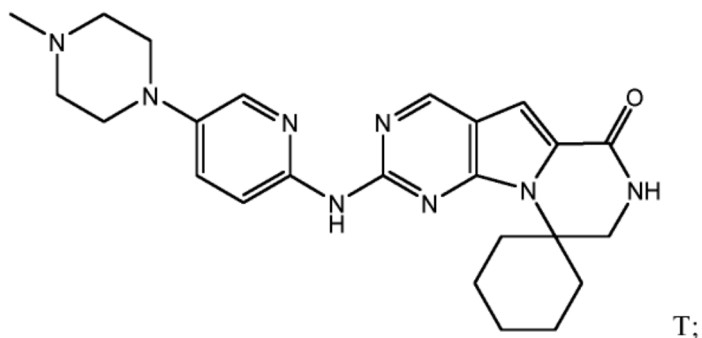
Compuestos activos

[0094] La presente invención está dirigida a un compuesto de la fórmula:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para reducir el efecto de la quimioterapia en sanos células en un sujeto que está siendo tratado para la quinasa dependiente de ciclina 4/6 (CDK4/6) cáncer independiente de replicación o proliferación celular anormal, en donde dichas células sanas son células madre hematopoyéticas, células progenitoras hematopoyéticas o células epiteliales renales, el método comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva del compuesto.

[0095] En ciertas realizaciones de la descripción, el compuesto se selecciona de:



lugar a todos los componentes diferenciados de la sangre (p. ej., glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas). Ver FIG. 1.

[0101] Ciertas células proliferantes, tales como HSPC, requieren la actividad enzimática de las quinasas proliferativas quinasas dependiente de ciclina 4 (CDK4) y/o quinasas dependiente de ciclina 6 (CDK6) para la replicación celular. Por el contrario, la mayoría de las células proliferantes en mamíferos adultos (p. ej., las células formadoras de sangre más diferenciadas en la médula ósea) no requieren la actividad de CDK4 y/o CDK6 (es decir, CDK4/6). Estas células diferenciadas pueden proliferar en ausencia de actividad CDK4/6 mediante el uso de otras quinasas proliferativas, como la quinasas dependiente de ciclina 2 (CDK2) o la quinasas dependiente de ciclina 1 (CDK1).

[0102] En ciertas realizaciones, el inhibidor CDK4/6 es un inhibidor CDK4/6 de Fórmula T o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la protección proporcionada por el compuesto es a corto plazo y de naturaleza transitoria, permitiendo que una porción significativa de las células se reincorporen sincrónicamente en el ciclo celular rápidamente después del cese del efecto del agente quimioterapéutico, p. ej., en menos de aproximadamente 24, 30, 36 o 40 horas. Las células que están inactivas dentro de la fase G1 del ciclo celular son más resistentes al efecto dañino de los agentes quimioterapéuticos que las células en proliferación. Los compuestos inhibidores de CDK4/6 para usar en los métodos descritos son inhibidores de CDK4/6 potentes, altamente selectivos, con una actividad inhibidora de CDK2 mínima. En una realización, un compuesto CDK4/6 para usar en los métodos descritos en el presente documento tiene un valor de concentración inhibitoria CDK4/CycD1 Cl_{50} que es > 1500 veces, > 1800 veces, > 2000 veces, > 2200 veces, > 2500 veces, > 2700 veces, > 3000 veces, > 3200 veces o más bajo que su valor de concentración Cl_{50} respectivo para la inhibición de CDK2/CycE. En una realización, un inhibidor de CDK4/6 para su uso en los métodos descritos en el presente documento tiene un valor de concentración Cl_{50} para CDK4/CycD1 inhibición que se trata de $< 1,50$ nM, $< 1,25$ nM, $< 1,0$ nM, $< 0,90$ nM, $< 0,85$ nM, $< 0,80$ nM, $< 0,75$ nM, $< 0,70$ nM, $< 0,65$ nM, $< 0,60$ nM, $< 0,55$ nM o menos. En una realización, un inhibidor de CDK4/6 para su uso en los métodos descritos en el presente documento tiene un valor de concentración Cl_{50} para la inhibición de CDK2/CycE que se trata de $> 1,0$ μ M, $> 1,25$ μ M, $> 1,50$ μ M, $> 1,75$ μ M, $> 2,0$ μ M, $> 2,25$ μ M, $> 2,50$ μ M, $> 2,75$ μ M, $> 3,0$ μ M, $> 3,25$ μ M, $> 3,5$ μ M o más. En una realización, un inhibidor de CDK4/6 para uso en los métodos descritos en el presente documento tiene un Cl_{50} valor de concentración para CDK2/CycA Cl_{50} que es $> 0,80$ μ M, $> 0,85$ μ M, $> 0,90$ μ M, $> 0,95$ μ M, $> 1,0$ μ M, $> 1,25$ μ M, $> 1,50$ μ M, $> 1,75$ μ M, $> 2,0$ μ M, $> 2,25$ μ M, $> 2,50$ μ M, $> 2,75$ μ M, $> 3,0$ μ M o más.

[0103] En una realización, los inhibidores de CDK4/6 descritos en este documento se usan en estrategias de ciclado de células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 en las que un sujeto está expuesto a tratamientos quimioterapéuticos regulares y repetidos, en donde las células sanas son detenidas por G1 cuando el agente quimioterapéutico expuesto y permitido volver a entrar en el ciclo celular antes del próximo tratamiento quimioterapéutico del sujeto. Tal ciclo permite que las células dependientes de la replicación de CDK4/6 regeneren los linajes de células sanguíneas dañadas entre tratamientos regulares y repetidos, p. ej., aquellos asociados con tratamientos quimioterapéuticos estándar para el cáncer, y reduce el riesgo asociado con la inhibición a largo plazo de CDK4/6. Este ciclo entre un estado de detención de G1 y un estado de replicación no es factible en exposiciones a agentes quimioterapéuticos repetidos de tiempo limitado usando inhibidores CDK4/6 de acción más prolongada como PD0332991, ya que los efectos persistentes de detención de G1 del compuesto prohíben la reentrada importante y significativa en el ciclo celular antes de la siguiente exposición al agente quimioterapéutico o retrasar el ingreso de las células sanas al ciclo celular y la reconstitución de los tejidos o células dañadas después del cese del tratamiento.

[0104] Los trastornos proliferativos que se tratan con quimioterapia incluyen enfermedades cancerosas y no cancerosas. En una realización típica, el trastorno proliferativo es un trastorno independiente de replicación de CDK4/6. Los compuestos son efectivos para proteger las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC, durante el tratamiento quimioterapéutico de una amplia gama de tipos de tumores, que incluyen, entre otros, los siguientes: mama, próstata, ovario, piel, pulmón, colorrectal, cerebro (es decir, glioma) y renal. Preferiblemente, el inhibidor selectivo de CDK4/6 no debe comprometer la eficacia del agente quimioterapéutico ni detener a G1 para detener las células cancerosas. Muchos cánceres no dependen de las actividades de CDK4/6 para la proliferación, ya que pueden usar las quinasas proliferativas de manera promiscua (p. ej., pueden usar CDK 1/2/4/o 6) o carecen de la función de la proteína supresora de tumores de retinoblastoma (Rb), que está desactivada por los CDK. La sensibilidad potencial de ciertos tumores a la inhibición de CDK4/6 se puede deducir en función del tipo de tumor y la genética molecular utilizando técnicas estándar. Los cánceres que normalmente no se ven afectados por la inhibición de CDK4/6 son aquellos que se pueden caracterizar por uno o más del grupo que incluyen, entre otros, aumento de la actividad de CDK1 o CDK2, pérdida, deficiencia o ausencia de supresor tumoral de proteína de retinoblastoma (Rb), altos niveles de expresión de MYC, aumento de ciclina E (p. ej., E1 o E2) y aumento de ciclina A, o expresión de una proteína inactivadora de Rb (como E7 codificada por HPV). Dichos cánceres pueden incluir, entre otros, cáncer de pulmón de células pequeñas, retinoblastoma, tumores malignos positivos para el VPH como el cáncer cervical y ciertos cánceres de cabeza y cuello, tumores amplificados con MYC como el linfoma de Burkitts y cáncer de seno triple negativo; ciertas clases de sarcoma, ciertas clases de carcinoma de pulmón de células no pequeñas, ciertas clases de melanoma, ciertas clases de cáncer de páncreas, ciertas clases de leucemia, ciertas clases de linfoma, ciertas clases de cáncer de cerebro, ciertas clases de cáncer de colon, ciertas clases de cáncer de próstata, ciertas clases de cáncer de ovario, ciertas clases de cáncer uterino, ciertas clases de cánceres de tiroides y otros tejidos de tejido endocrino, ciertas clases de cánceres salivales, ciertas clases de carcinomas tímicos, ciertas clases de cánceres de riñón, ciertas clases de cánceres de vejiga, y ciertas clases de cánceres testiculares.

[0105] La pérdida o ausencia de proteína (Rb-nulo) supresora de tumores de retinoblastoma (Rb) se puede determinar a través de cualquier documento de los ensayos estándar conocidos por una persona de habilidad ordinaria en la técnica, que incluye pero no se limita a transferencia Western, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), IHC (inmunohistoquímica) y FACS (clasificación de células activadas por fluorescencia). La selección del ensayo dependerá del tejido, la línea celular o la muestra de tejido sustituto que se utilice, p. ej., transferencia Western y ELISA pueden usarse con cualquiera o todos los tipos de tejidos, líneas celulares o tejidos sustitutos, mientras que el método IHC sería ser más apropiado en donde el tejido utilizado en los métodos descritos aquí fue una biopsia tumoral. El análisis FAC sería más aplicable a las muestras que eran suspensiones de células individuales, como líneas celulares y células mononucleares aisladas de sangre periférica. Véase, p. ej., el documento US 20070212736 "Functional Immunohistochemical Cell Cycle Analysis as a Prognostic Indicator for Cancer".

[0106] Alternativamente, las pruebas genéticas moleculares pueden usarse para la determinación del estado del gen de retinoblastoma. Las pruebas genéticas moleculares para el retinoblastoma incluyen lo siguiente tal como se describe en Lohmann y Gallie "Retinoblastoma. Gene Reviews" (2010) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=retinoblastoma> o Parsam et al. "A comprehensive, sensitive and economical approach for the detection of mutations in the RB1 gene in retinoblastoma" Journal of Genetics, 88 (4), 517-527 (2009).

[0107] El aumento de actividad de CDK1 o CDK2, altos niveles de expresión MYC, el aumento de la ciclina E y el aumento de la ciclina A se puede determinar a través de cualquiera de los ensayos estándar conocidos para un experto normal en la técnica, incluyendo, pero no limitado a transferencia Western, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), IHC (inmunohistoquímica) y FACS (clasificación de células activadas por fluorescencia). La selección del ensayo dependerá del tejido, la línea celular o la muestra de tejido sustituto que se utilice, p. ej., transferencia Western y ELISA pueden usarse con cualquiera o todos los tipos de tejidos, líneas celulares o tejidos sustitutos, mientras que el IHC El método sería más apropiado en donde el tejido utilizado en los métodos descritos era una biopsia tumoral. El análisis FAC sería más aplicable a las muestras que eran suspensiones de células individuales, como líneas celulares y células mononucleares aisladas de sangre periférica.

[0108] En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de un cáncer de pulmón de células pequeñas, retinoblastoma y cáncer de mama triple negativo (ER/PR/Her2 negativo) o "de tipo basal", que casi siempre inactiva la proteína supresora de tumores de retinoblastoma (Rb), y por lo tanto no requieren actividad CDK4/6 para proliferar. El cáncer de mama triple negativo (basal) también es casi siempre genéticamente o funcionalmente nulo en Rb. Además, ciertos cánceres inducidos por virus (p. ej., cáncer cervical y subconjuntos de cáncer de cabeza y cuello) expresan una proteína viral (E7) que inactiva Rb, lo que hace que estos tumores sean funcionalmente nulos. También se cree que algunos cánceres de pulmón son causados por el VPH. En una realización particular, el cáncer es cáncer de pulmón de células pequeñas, y el paciente se trata con un agente que daña el ADN seleccionado del grupo que consiste en etopósido, carboplatino y cisplatino, o una combinación de los mismos.

[0109] Los inhibidores CDK4/6 seleccionados descritos en este documento también se pueden usar en la protección de células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 durante los tratamientos quimioterapéuticos de tejidos anormales en enfermedades proliferativas no cancerosas, incluyendo pero no limitadas a: psoriasis, lupus, artritis (especialmente artritis reumatoide), hemangiomas en lactantes, esclerosis múltiple, enfermedad mielodegenerativa, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad de Paget del hueso, enfermedad fibroquística del seno, fibrosis de Peyronie y Duputren, restenosis y cirrosis. Además, los inhibidores selectivos de CDK4/6 se pueden utilizar para mejorar los efectos de los agentes quimioterapéuticos en caso de exposición accidental o sobredosis (p. ej., sobredosis de metotrexato).

[0110] Según la presente invención, el compuesto activo puede administrarse a un sujeto en cualquier programa de tratamiento quimioterapéutico y en cualquier dosis consistente con el curso de tratamiento prescrito. El compuesto inhibidor selectivo de CDK4/6 se administra antes, durante o después de la administración del agente quimioterapéutico. En una realización, los inhibidores de CDK4/6 descritos en este documento pueden administrarse al sujeto durante el período de tiempo que varía desde 24 horas antes del tratamiento quimioterapéutico hasta 24 horas después de la exposición. Sin embargo, este período de tiempo puede extenderse al tiempo anterior a las 24 horas previas a la exposición al agente (p. ej., Según el tiempo que tome el agente quimioterapéutico utilizado para lograr concentraciones plasmáticas adecuadas y/o la vida media plasmática del compuesto). Además, el período de tiempo puede extenderse más de 24 horas después de la exposición al agente quimioterapéutico siempre que la administración posterior del inhibidor de CDK4/6 produzca al menos algún efecto protector. Tal tratamiento posterior a la exposición puede ser especialmente útil en casos de exposición accidental o sobredosis.

[0111] En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de CDK4/6 se puede administrar al sujeto en un período de tiempo antes de la administración del agente quimioterapéutico, de modo que los niveles plasmáticos del inhibidor selectivo de CDK4/6 alcancen su punto máximo en el momento de la administración del agente quimioterapéutico. Si es conveniente, el inhibidor selectivo de CDK4/6 puede administrarse al mismo tiempo que el agente quimioterapéutico, para simplificar el régimen de tratamiento. En algunas realizaciones, el quimioprotector y quimioterapéutico se pueden proporcionar en una sola formulación.

[0112] En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de CDK4/6 puede administrarse al sujeto de manera que el agente quimioterapéutico puede administrarse a dosis más altas (intensidad de dosis quimioterapéutica aumentada) o más frecuentemente (densidad de dosis quimioterapéutica incrementada). La quimioterapia densa en dosis es un plan de tratamiento de quimioterapia en donde los medicamentos se administran con menos tiempo entre tratamientos que en un plan de tratamiento de quimioterapia estándar. La intensidad de la dosis de quimioterapia representa la dosis unitaria de quimioterapia administrada por unidad de tiempo. La intensidad de la dosis se puede aumentar o disminuir a través de la dosis alterada administrada, el intervalo de tiempo de administración o ambos. La mielosupresión sigue representando la principal toxicidad limitante de la dosis de la quimioterapia contra el cáncer, lo que resulta en una considerable morbilidad y mortalidad a lo largo del con reducciones frecuentes en la intensidad de la dosis de quimioterapia, lo que puede comprometer la enfermedad control y supervivencia. Los compuestos y su uso como se describe en el presente documento representan una forma de aumentar la densidad de la dosis de quimioterapia y/o la intensidad de la dosis al tiempo que mitigan eventos adversos tales como, pero sin limitarse a, mielosupresión.

[0113] Si se desea, se pueden administrar múltiples dosis del compuesto inhibidor de CDK4/6 seleccionado al sujeto. Alternativamente, al sujeto se le puede administrar una dosis única del inhibidor de CDK4/6 seleccionado. Por ejemplo, el inhibidor de CDK4/6 puede administrarse de modo que las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 sean detenidas por G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico en donde, debido a la rápida disipación del efecto de detención de G1 de los compuestos, un número significativo de las células sanas vuelven a entrar en el ciclo celular y son capaces de replicarse poco después de la exposición al agente quimioterapéutico, p. ej., dentro de aproximadamente 24-48 horas o menos, y continúan repitiéndose hasta la administración del inhibidor CDK4/6 antes del próximo tratamiento quimioterapéutico. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra para permitir el ciclo de las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 entre la detención de G1 y la reentrada en el ciclo celular para acomodar un régimen de tratamiento quimioterapéutico de dosificación repetida, p. ej., que incluye pero no se limita a un régimen de tratamiento en donde se administra el agente quimioterapéutico: en los días 1-3 cada 21 días; en los días 1-3 cada 28 días; el día 1 cada 3 semanas; el día 1, día 8 y día 15 cada 28 días, el día 1 y día 8 cada 28 días; los días 1 y 8 cada 21 días; en los días 1-5 cada 21 días; 1 día a la semana durante 6-8 semanas; los días 1, 22 y 43; días 1 y 2 semanales; días 1-4 y 22-25; 1-4; 22-25 y 43-46; y regímenes de tipo similares, en los que las células dependientes de replicación de CDK4/6 son detenidas por G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico y una porción significativa de las células vuelve a entrar en el ciclo celular entre la exposición al agente quimioterapéutico.

[0114] En una realización, el inhibidor de CDK4/6 descrito en el presente documento se usa para proporcionar quimioprotección a las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 de un sujeto durante un protocolo de tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas independiente de replicación de CDK4/6. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de pulmón de células pequeñas tal como, pero no limitado a: cisplatino 60 mg/m² IV en el día 1 más etopósido 120 mg/m² IV en los días 1-3 cada 21 días por 4 ciclos; cisplatino 80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 100 mg/m² IV los días 1-3 cada 28 días durante 4 ciclos; cisplatino 60-80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 80-120 mg/m² IV los días 1-3 cada 21-28 días (máximo de 4 ciclos); carboplatino AUC5-6 IV en el día 1 más etopósido 80-100 mg/m² IV en los días 1-3 cada 28 días (máximo de 4 ciclos); Cisplatino 60-80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 80-120 mg/m² IV los días 1-3 cada 21-28 días; carboplatino AUC5-6 IV en el día 1 más etopósido 80-100 mg/m² IV en los días 1-3 cada 28 días (máximo 6 ciclos); cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días (máximo 6 ciclos); cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días (máximo 6 ciclos); carboplatino AUC5 IV en el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV en los días 1, 8 y 15 cada 28 días (máximo 6 ciclos); carboplatino AUC4-5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días (máximo 6 ciclos); ciclofosfamida 800-1000 mg/m² IV el día 1 más doxorrubicina 40-50 mg/m² IV el día 1 más vincristina 1-1,4 mg/m² IV el día 1 cada 21-28 días (máximo 6 ciclos); Etopósido 50 mg/m² PO al día durante 3 semanas cada 4 semanas; topotecan 2,3 mg/m² PO los días 1-5 cada 21 días; topotecan 1,5 mg/m² IV en los días 1-5 cada 21 días; carboplatino AUC5 IV el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; carboplatino AUC4 - 5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días; paclitaxel 80 mg/m² IV semanalmente por 6 semanas cada 8 semanas; paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; etopósido 50 mg/m² PO diariamente por 3 semanas cada 4 semanas; topotecan 2,3 mg/m² PO los días 1-5 cada 21 días; topotecan 1,5 mg/m² IV en los días 1-5 cada 21 días; carboplatino AUC5 IV el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; carboplatino AUC4-5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días; paclitaxel 80 mg/m² IV semanalmente por 6 semanas cada 8 semanas; y paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas.

[0115] En una realización, un inhibidor de CDK4/6 descrito aquí se administra a un sujeto con cáncer de pulmón de células pequeñas en los días 1, 2 y 3 de un protocolo de tratamiento en donde el agente que daña el ADN seleccionado

del grupo que consiste en carboplatino, etopósido, y cisplatino, o una combinación de los mismos, se administra los días 1, 2 y 3 cada 21 días.

[0116] En una realización, un inhibidor de CDK4/6 descrito en este documento se usa para proporcionar quimioprotección a las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 de un sujeto durante un protocolo de tratamiento de cáncer de cabeza y cuello independiente de replicación de CDK4/6. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de cabeza y cuello independiente de replicación de CDK4/6 tal como, pero no limitado a: cisplatino 100 mg/m² IV los días 1, 22 y 43 o 40-50 mg/m² IV por semana durante 6-7 semanas; cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga 1 semana antes del inicio de la radioterapia, luego 250 mg/m² por semana (premedicado con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 20 mg/m² IV el día 2 semanalmente por hasta 7 semanas más paclitaxel 30 mg/m² IV el día 1 semanalmente por hasta 7 semanas; cisplatino 20 mg/m²/día IV en los días 1-4 y 22-25 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV en los días 1-4 y 22-25; 5-FU 800 mg/m² por infusión IV continua en los días 1-5 administrados en los días de radiación más hidroxiurea 1 g PO cada 12 H (11 dosis por ciclo); quimioterapia y radiación administradas cada dos semanas por un total de 13 semanas; carboplatino 70 mg/m²/día IV en los días 1-4, 22-25, y 43-46 más 5-FU 600 mg/m²/día por infusión IV continua en los días 1-4, 22-25 y 43-46; carboplatino AUC_{1,5} IV en el día 1 semanal más paclitaxel 45 mg/m² IV en el día 1 semanal; cisplatino 100 mg/m² IV los días 1, 22 y 43 o 40-50 mg/m² IV semanalmente durante 6-7 semanas; docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 más cisplatino 100 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 100 mg/m²/día por infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas durante 3 ciclos, luego 3-8 semanas más tarde, carboplatino AUC_{1,5} IV semanalmente por hasta 7 semanas durante la radioterapia; docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 más cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 750 mg/m²/día mediante infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas durante 4 ciclos; cisplatino 100 mg/m² IV en el día 1 cada 3 semanas poR⁶ ciclos más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión IV continua en los días 1-4 cada 3 semanas poR⁶ ciclos más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga en el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente hasta la progresión de la enfermedad (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); carboplatino AUC₅ IV en el día 1 cada 3 semanas por 6 ciclos más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV en los días 1-4 cada 3 semanas poR⁶ ciclos más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga en el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente hasta la progresión de la enfermedad (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más docetaxel 65 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más paclitaxel 200 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75-100 mg/m² IV el día 1 cada 3-4 semanas más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 100 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas; metotrexato 40 mg/m² IV semanalmente (3 semanas equivalen a 1 ciclo); paclitaxel 200 mg/m² IV cada 3 semanas; docetaxel 75 mg/m² IV cada 3 semanas; cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente hasta la progresión de la enfermedad (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 100 mg/m² IV en el día 1 cada 3 semanas por 6 ciclos más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión IV continua en los días 1-4 cada 3 semanas por 6 ciclos más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga en el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente (premedicado con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); carboplatino AUC₅ IV en el día 1 cada 3 semanas por 6 ciclos más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV en los días 1-4 cada 3 semanas por 6 ciclos más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga en el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente (premedicado con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más docetaxel 65 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más paclitaxel 200 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75-100 mg/m² IV el día 1 cada 3-4 semanas más cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 100 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas; metotrexato 40 mg/m² IV semanalmente (3 semanas equivalen A¹ ciclo); paclitaxel 200 mg/m² IV cada 3 semanas; docetaxel 75 mg/m² IV cada 3 semanas; cetuximab 400 mg/m² IV dosis de carga el día 1, luego 250 mg/m² IV semanalmente hasta la progresión de la enfermedad (premedicar con dexametasona, difenhidramina y ranitidina); cisplatino 100 mg/m² IV en los días 1, 22 y 43 con radiación, luego cisplatino 80 mg/m² IV en el día 1 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión IV continua en los días 1-4 cada 4 semanas durante 3 semanas ciclos; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más docetaxel 65 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más paclitaxel 200 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 100 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas; cisplatino 50-70 mg/m² IV el día 1 más gemcitabina 1000 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 4 semanas; gemcitabina 1000 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 4 semanas o gemcitabina 1250 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 3 semanas; metotrexato 40 mg/m² IV semanalmente (3 semanas equivalen A¹ ciclo); paclitaxel 200 mg/m² IV cada 3 semanas; docetaxel 75 mg/m² IV cada 3 semanas; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más docetaxel 75 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 75 mg/m² IV el día 1 más paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más docetaxel 65 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; carboplatino AUC₆ IV el día 1 más paclitaxel 200 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; cisplatino 100 mg/m² IV el día 1 más 5-FU 1000 mg/m²/día por infusión continua IV los días 1-4 cada 3 semanas; cisplatino 50-70 mg/m² IV el día 1 más gemcitabina 1000 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 4 semanas; gemcitabina 1000 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 4 semanas o gemcitabina 1250 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 3 semanas; metotrexato 40

mg/m² IV semanalmente (3 semanas equivalen a 1 ciclo); paclitaxel 200 mg/m² IV cada 3 semanas; y docetaxel 75 mg/m² IV cada 3 semanas.

[0117] En una realización, el inhibidor de CDK4/6 descrito aquí se usa para proporcionar quimioprotección a las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 de un sujeto durante un protocolo de tratamiento de cáncer de mama triple negativo independiente de replicación de CDK4/6. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de mama triple negativo independiente de replicación de CDK4/6, tal como, pero sin limitación: doxorubicina (adriamicina) y ciclofosfamida (citoxan) de dosis densa cada dos semanas por cuatro ciclos seguidos de paclitaxel de dosis densa (Taxol) cada dos semanas por cuatro ciclos; adriamicina/paclitaxel/ciclofosfomida cada tres semanas por un total de cuatro ciclos; adriamicina/paclitaxel/ciclofosfomida cada dos semanas por un total de cuatro ciclos; adriamicina/ciclofosfomida seguido de paclitaxel (Taxol) cada tres semanas durante cuatro ciclos cada uno; y adriamicina/ciclofosfomida seguido de paclitaxel (Taxol) cada dos semanas durante cuatro ciclos cada uno.

[0118] El cáncer de mama triple negativo (TNBC) se define como la ausencia de tinción para el receptor de estrógeno, el receptor de progesterona y HER2/neu. TNBC es insensible a algunas de las terapias más efectivas disponibles para el tratamiento del cáncer de mama incluyendo terapia dirigida a HER2 como trastuzumab y terapias endocrinas como tamoxifeno o los inhibidores de aromatasa. La quimioterapia citotóxica combinada administrada en un esquema de dosis densa o metronómica sigue siendo la terapia estándar para TNBC en etapa temprana. Los agentes de platino han surgido recientemente como medicamentos de interés para el tratamiento de TNBC con carboplatino agregado a paclitaxel y adriamicina más quimioterapia con ciclofosfamida en el entorno neoadyuvante. Los inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) están emergiendo como terapias prometedoras para el tratamiento de TNBC. Los PARP son una familia de enzimas involucradas en múltiples procesos celulares, incluida la reparación del ADN.

[0119] Como ilustración no limitante, el sujeto se expone al agente quimioterapéutico al menos 5 veces a la semana, al menos 4 veces a la semana, al menos 3 veces a la semana, al menos 2 veces a la semana, al menos 1 vez a la semana, al menos 3 veces al mes, al menos 2 veces al mes, o al menos 1 vez al mes, en donde las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 del sujeto son detenidas por G1 durante el tratamiento y se les permite alternar entre la exposición al agente quimioterapéutico, por ejemplo durante una pausa de tratamiento. En una realización, el sujeto se somete a un tratamiento quimioterapéutico 5 veces a la semana, en donde las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto son detenidas G1 durante la exposición al agente quimioterapéutico y se les permite volver a entrar en el ciclo celular durante el descanso de 2 días, p. ej., el fin de semana.

[0120] En una realización, usando un inhibidor de CDK4/6 descrito aquí, las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto son detenidas durante la totalidad del período de tiempo de exposición al agente quimioterapéutico, p. ej., durante un régimen contiguo de varios días, las células se detienen durante el período de tiempo requerido para completar el curso contiguo de varios días, y luego se les permite reciclar al final del curso contiguo de varios días. En una realización, usando un inhibidor de CDK4/6 descrito aquí, las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto son detenidas durante la totalidad del régimen quimioterapéutico, p. ej., en una exposición quimioterapéutica diaria durante tres semanas, y vuelven a entrar rápidamente en el ciclo de células después de la finalización del régimen terapéutico.

[0121] En una realización, el sujeto ha sido expuesto a un agente quimioterapéutico, y, usando un inhibidor de CDK4/6 descrito aquí, las células sanas dependientes de replicación de CDK4/6 del sujeto se colocan en detención G1 después de la exposición para mitigar, p. ej., daño en el ADN. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 se administra al menos ½ hora, al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 10 horas, al menos 12 horas, al menos 14 horas, al menos 16 horas, al menos 18 horas, al menos 20 horas o más después de la exposición al agente quimioterapéutico.

[0122] En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona métodos para la protección de mamíferos, particularmente humanos, de los efectos tóxicos agudos y crónicos de los agentes quimioterapéuticos al forzar células sanas dependientes de replicación de CDK4/6, por ejemplo células madre hematopoyéticas y células progenitoras (HSPC)) y/o células epiteliales renales, en un estado de reposo por tratamiento transitorio (p. ej., durante menos de aproximadamente 40, 36, 30, 24 horas o menos) con un inhibidor de Fórmula T CDK4/6. Las células dependientes de replicación de CDK4/6 se recuperan de este período de inactividad transitoria, y luego funcionan normalmente después de que se detiene el tratamiento con el inhibidor, y su efecto intracelular se disipa. Durante el período de inactividad, las células dependientes de la replicación de CDK4/6 están protegidas de los efectos de los agentes quimioterapéuticos.

[0123] En algunas realizaciones, las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6 se pueden detener durante períodos más largos, p. ej., durante un período de horas, días y/o semanas, a través de múltiples administraciones separadas por tiempo de un CDK4/6 inhibidor descrito en este documento. Debido a la rápida y sincrónica reentrada en el ciclo celular por las células sanas dependientes de la replicación de CDK4/6, por ejemplo HSPC, tras la disipación de los efectos intracelulares de los inhibidores de CDK4/6, las células son capaces de reconstituir los linajes celulares más rápido que inhibidores CDK4/6 con perfiles de detención G1 más largos, por ejemplo PD0332991.

[0124] La reducción de quimiotoxicidad ofrecida por los inhibidores CDK4/6 selectivos puede permitir la intensificación de dosis (p. ej., más tratamiento se puede administrar en un periodo fijo de tiempo) en quimioterapias relacionadas con la medicina, que se traducirá en una mejor eficacia. Por lo tanto, los métodos descritos actualmente pueden dar como resultado regímenes de quimioterapia que son menos tóxicos y más efectivos. Además, en contraste con los tratamientos protectores con factores de crecimiento biológico exógeno, los inhibidores selectivos de CDK4/6 descritos en el presente documento son moléculas pequeñas disponibles por vía oral, que pueden formularse para la administración a través de varias rutas diferentes. Cuando sea apropiado, las moléculas pequeñas pueden formularse para administración oral, tópica, intranasal, inhalación, intravenosa o cualquier otra forma de administración deseada.

[0125] Un inhibidor CDK4/6 útil en los métodos descritos en el presente documento es un compuesto inhibidor CDK4/6 selectivo que inhibe selectivamente al menos una de CDK4 y CDK6, o cuyo modo de acción predominante es a través de la inhibición de CDK4 y/o CDK6. En una realización, los inhibidores selectivos de CDK4/6 tienen un CI_{50} para CDK4 medido en un ensayo de fosforilación CI_{50} de CDK4/CycD1 que es al menos 1500, 2000, 5000 o incluso 10.000 veces o más bajo que el CI_{50} del compuesto para CDK2 medido en un ensayo de fosforilación CI_{50} de CDK2/CycE. En una realización, los inhibidores de CDK4/6 son al menos aproximadamente 10 veces o mayor más potente (es decir, tienen un CI_{50} en un ensayo de fosforilación de CDK4/CycD1 que es al menos 10 veces o más bajo) que PD0332991.

[0126] El uso de un inhibidor de CDK4/6 seleccionado como se describe en este documento puede inducir la detención G1 selectiva en células dependientes de CDK4/6 (p. ej., como se mide en una célula basada en el ensayo in vitro). En una realización, el inhibidor de CDK4/6 es capaz de aumentar el porcentaje de células dependientes de CDK4/6 en la fase G1, mientras que disminuye el porcentaje de células dependientes de CDK4/6 en la fase G2/M y la fase S. En una realización, el inhibidor selectivo de CDK4/6 induce la detención del ciclo celular G1 sustancialmente puro (es decir, "limpio") en las células dependientes de CDK4/6 (p. ej., en donde el tratamiento con el inhibidor selectivo de CDK4/6 induce la detención del ciclo celular de tal manera que la mayoría de las células son detenidas en G1 según lo definido por métodos estándar (p. ej., tinción con yoduro de propidio (PI) u otros) con la población de células en el G2/fases M y S combinadas son menos de aproximadamente 30%, aproximadamente el 25%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 15%, aproximadamente el 10%, aproximadamente 5%, aproximadamente el 3% o menos de la población celular total. Se conocen métodos de evaluación de la fase celular de una población de células en la técnica (véase, p. ej., en la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2002/0224522) e incluye análisis citométrico, análisis microscópico, centrifugación en gradiente, elutriación, técnicas de fluorescencia que incluyen inmunofluorescencia y combinaciones de las mismas. Técnicas citométricas incluyen exponer la célula a un agente de etiquetado o tinción, como los colorantes de unión al ADN, p. ej., PI, y el análisis del contenido de ADN celular por citometría de flujo. Las técnicas de inmunofluorescencia incluyen la detección de indicadores específicos del ciclo celular tales como, p. ej., análogos de timidina (p. ej., 5-bromo-2-desoxiuridina (BrdU) o una yododesoxiuridina), con anticuerpos fluorescentes.

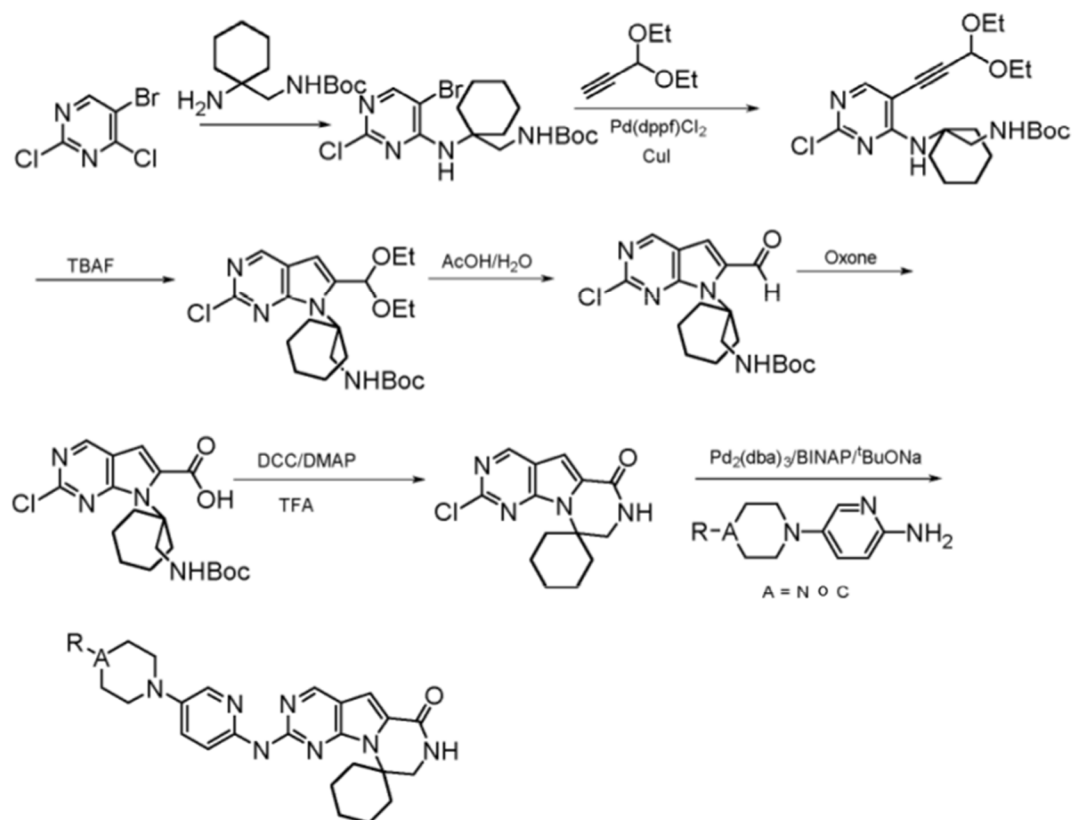
[0127] En algunas realizaciones, el uso de un inhibidor selectivo de CDK4/6 descrito en la presente memoria da como resultado efectos reducidos o sustancialmente libres de objetivos, particularmente relacionados con la inhibición de quinasas distintas de CDK4 y/o CDK6 tales como CDK2, como inhibidores de CDK4/6 selectivos descritos en este documento son inhibidores deficientes (p. ej., $> 1 \mu M$ CI_{50}) de CDK2. Además, debido a la alta selectividad para CDK4/6, el uso de los compuestos descritos en este documento no debe inducir la detención del ciclo celular en células independientes de CDK4/6. Además, debido a la corta naturaleza transitoria del efecto de detención de G1, las células dependientes de replicación de CDK4/6 vuelven a entrar más rápidamente en el ciclo celular que, comparativamente, el uso de PD0332991 proporciona, lo que resulta en un riesgo reducido de, en una realización, el desarrollo de toxicidad hematológica durante los regímenes de tratamiento a largo plazo debido a la capacidad de los HSPC de replicarse entre tratamientos quimioterapéuticos.

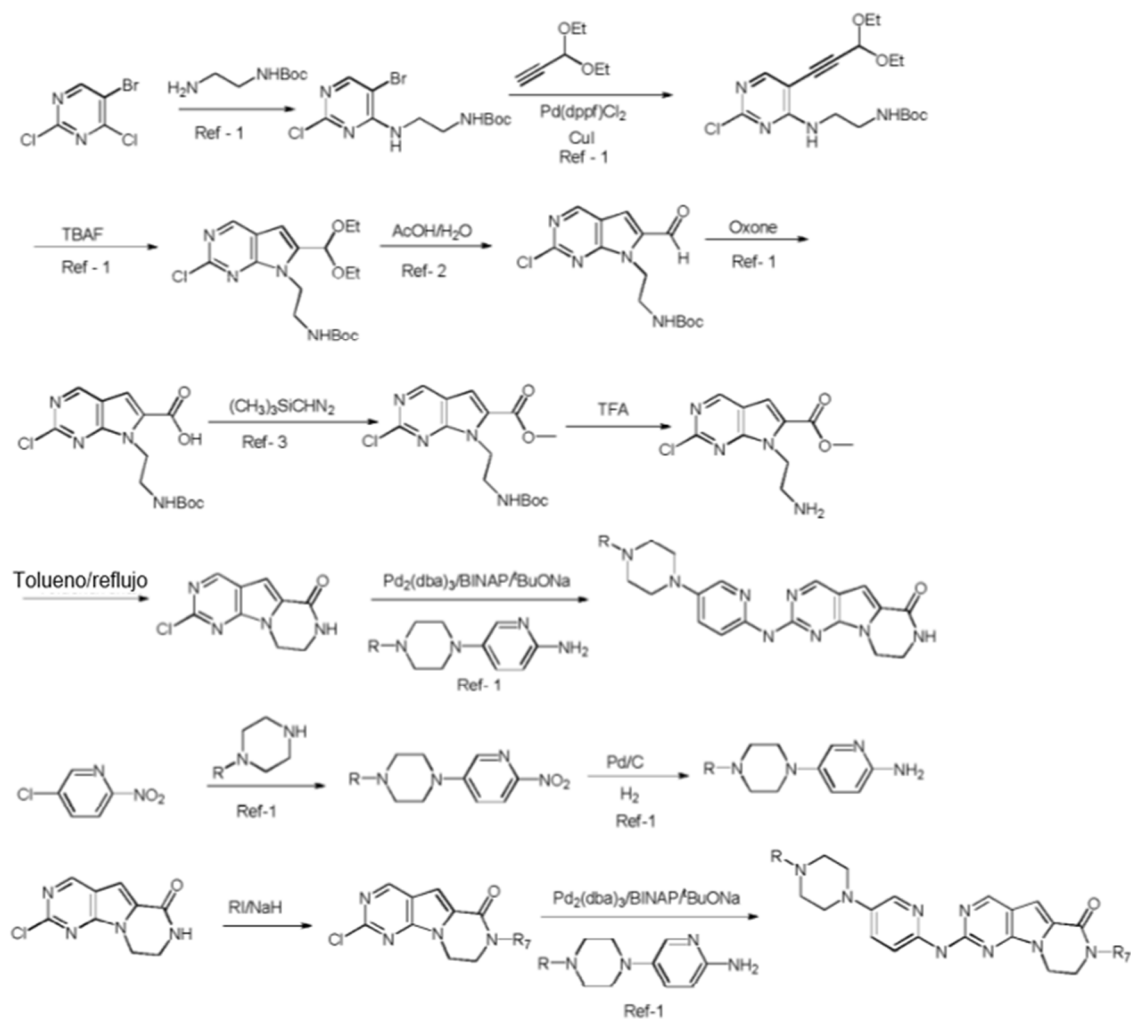
[0128] En algunas realizaciones, el uso de un inhibidor selectivo de CDK4/6 descrito en el presente documento reduce el riesgo de efectos no deseados fuera del objetivo que incluyen, pero no se limitan a, toxicidad a largo plazo, efectos antioxidantes y efectos estrogénicos. Los efectos antioxidantes se pueden determinar mediante ensayos estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, un compuesto sin efectos antioxidantes significativos es un compuesto que no elimina significativamente los radicales libres, como los radicales de oxígeno. Los efectos antioxidantes de un compuesto pueden compararse con un compuesto con actividad antioxidante conocida, como la genisteína. Por lo tanto, un compuesto sin actividad antioxidante significativa puede ser uno que tenga menos de aproximadamente 2, 3, 5, 10, 30 o 100 veces la actividad antioxidante con respecto a la genisteína. Las actividades estrogénicas también se pueden determinar mediante ensayos conocidos. Por ejemplo, un compuesto no estrogénico es uno que no se une y activa significativamente el receptor de estrógenos. Un compuesto que está sustancialmente libre de efectos estrogénicos puede ser uno que tenga menos de aproximadamente 2, 3, 5, 10, 20 o 100 veces la actividad estrogénica en relación con un compuesto con actividad estrogénica, p. ej., genisteína.

Síntesis de inhibidores CDK4/6 selectos

[0129] Inhibidores CDK4/6 de la presente invención se pueden sintetizar por cualquier medio conocido por los expertos ordinarios en la técnica, incluyendo, p. ej., de acuerdo con los esquemas generalizados de 1 a 9 a continuación. Se pueden encontrar síntesis específicas en, p. ej., WO2012/061156 (5-(4-isopropilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina y 5-

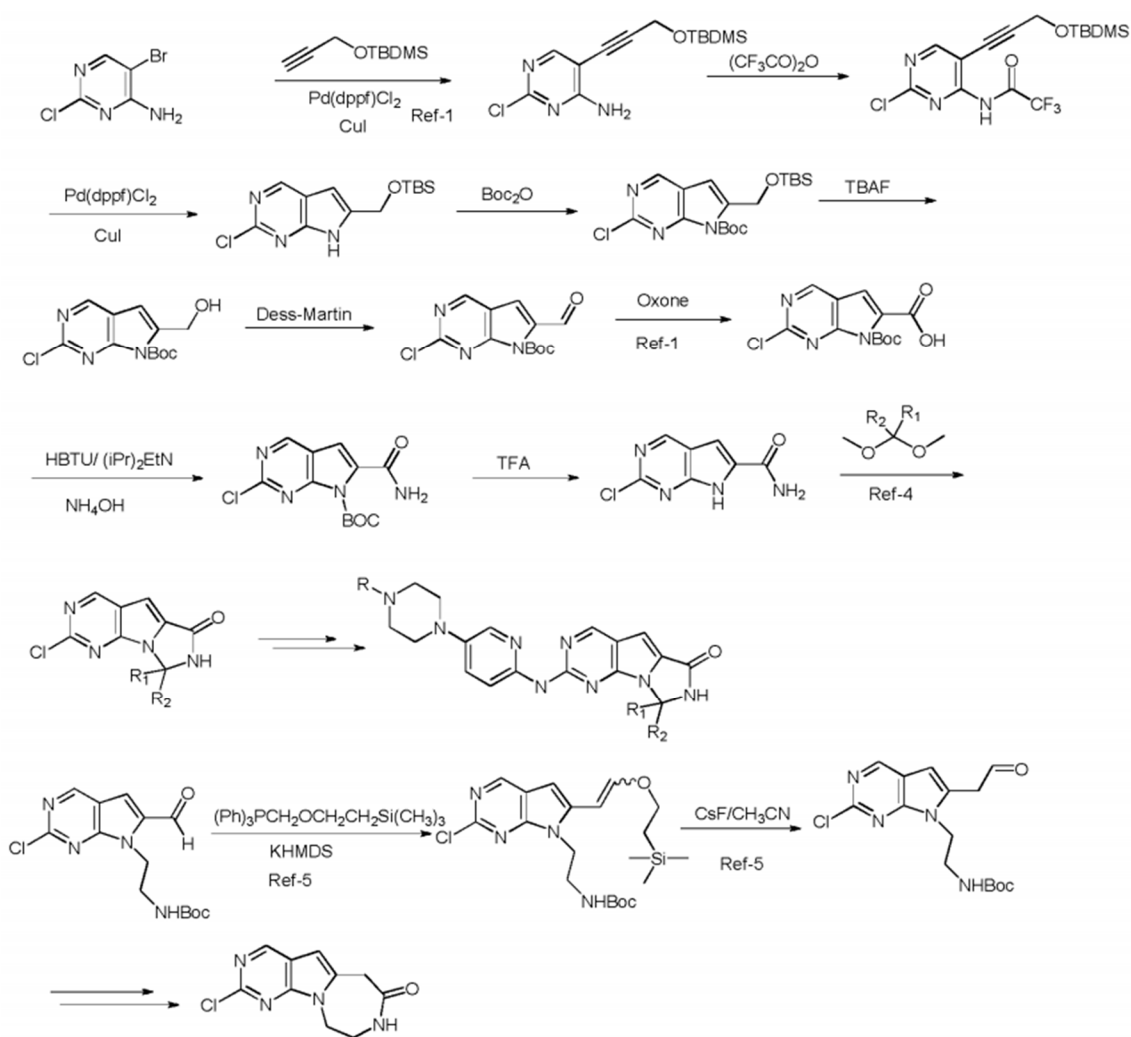
(4-morfolino-1-piperidilo)piridina-2-amina, respectivamente). La Fórmula I y la Fórmula II pueden sintetizarse de acuerdo con el Esquema 1 usando las 2-aminopirimidinas sustituidas correspondientes o como se describe en el documento WO2012/061156.



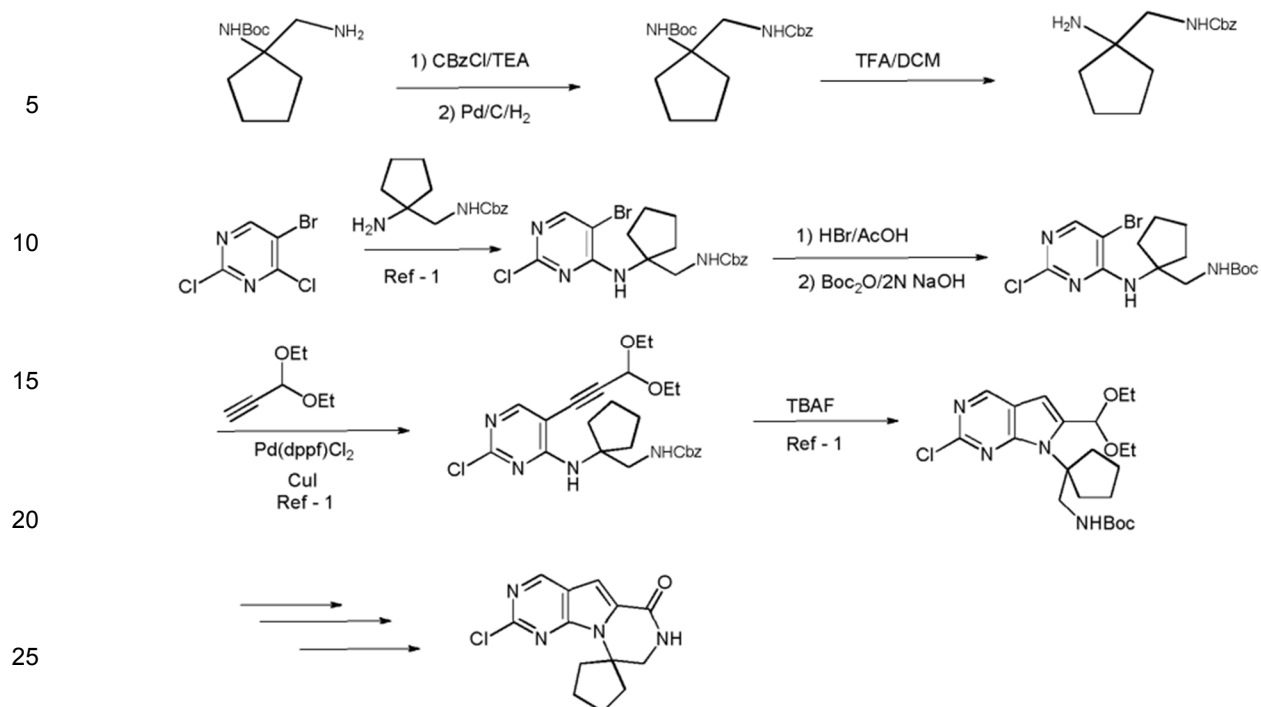


Esquema 2

[0130] En el Esquema 2, Ref-1 es WO 2010/020675 A1; Ref-2 es White, JD; et al. J. Org. Chem 1995, 60, 3600; y Ref-3 Presser, A. y Hufner, A. Monatshefte für Chemie 2004, 135, 1015.

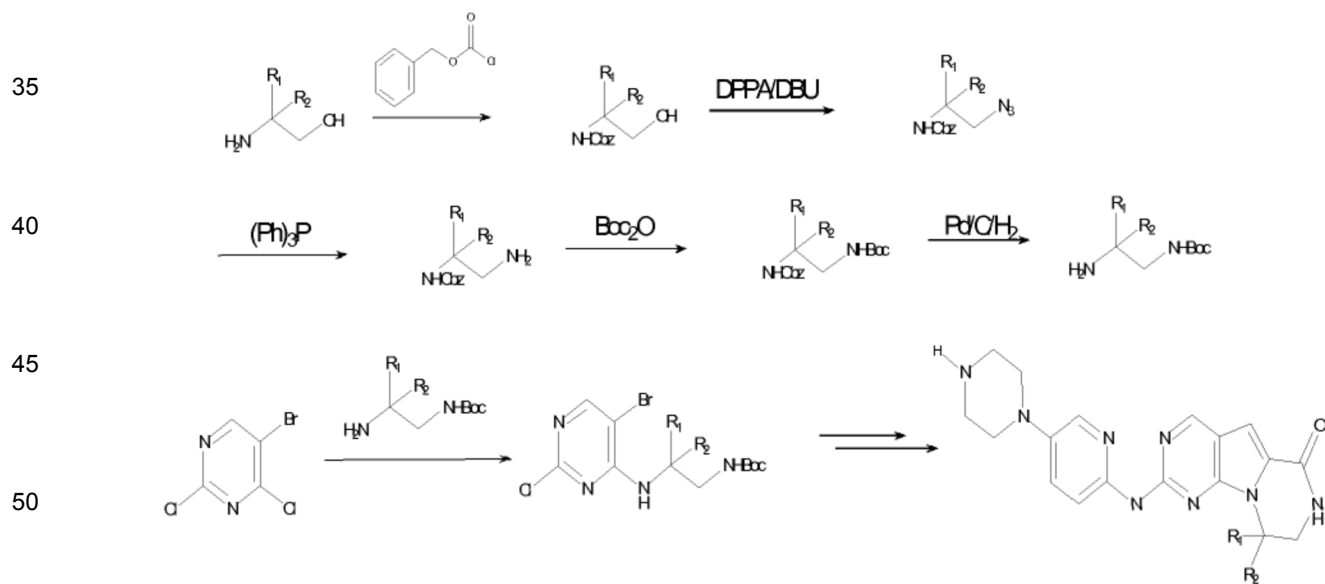
**Esquema 3**

[0131] En el Esquema 3, Ref-1 es WO 2010/020675 A1; Ref-4 es WO 2005/040166 A1; y Ref-5 es Schoenauer, K y Zbiral, E. Tetrahedron Letters 1983, 24, 573.

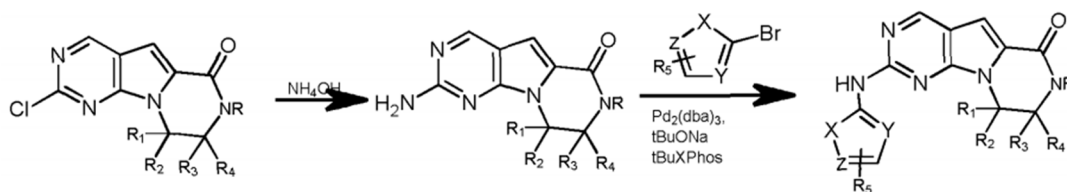


Esquema 4

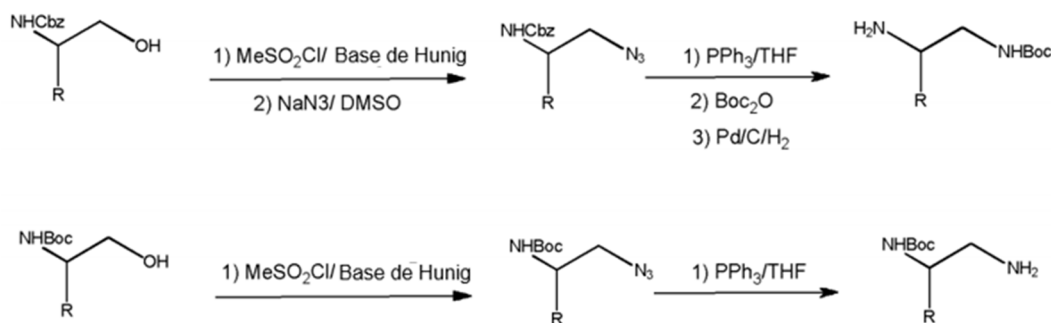
30 **[0132]** En el Esquema 4, Ref-1 es WO 2010/020675 A1.



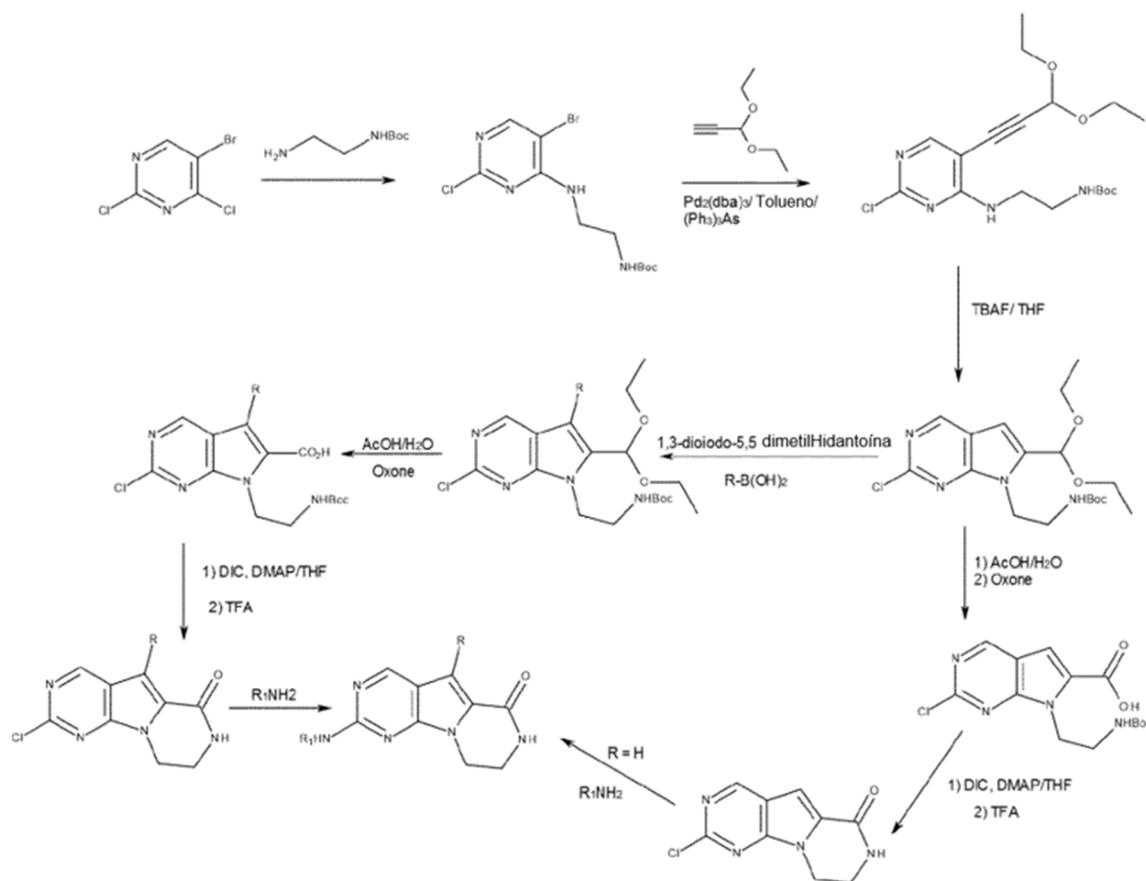
Esquema 5



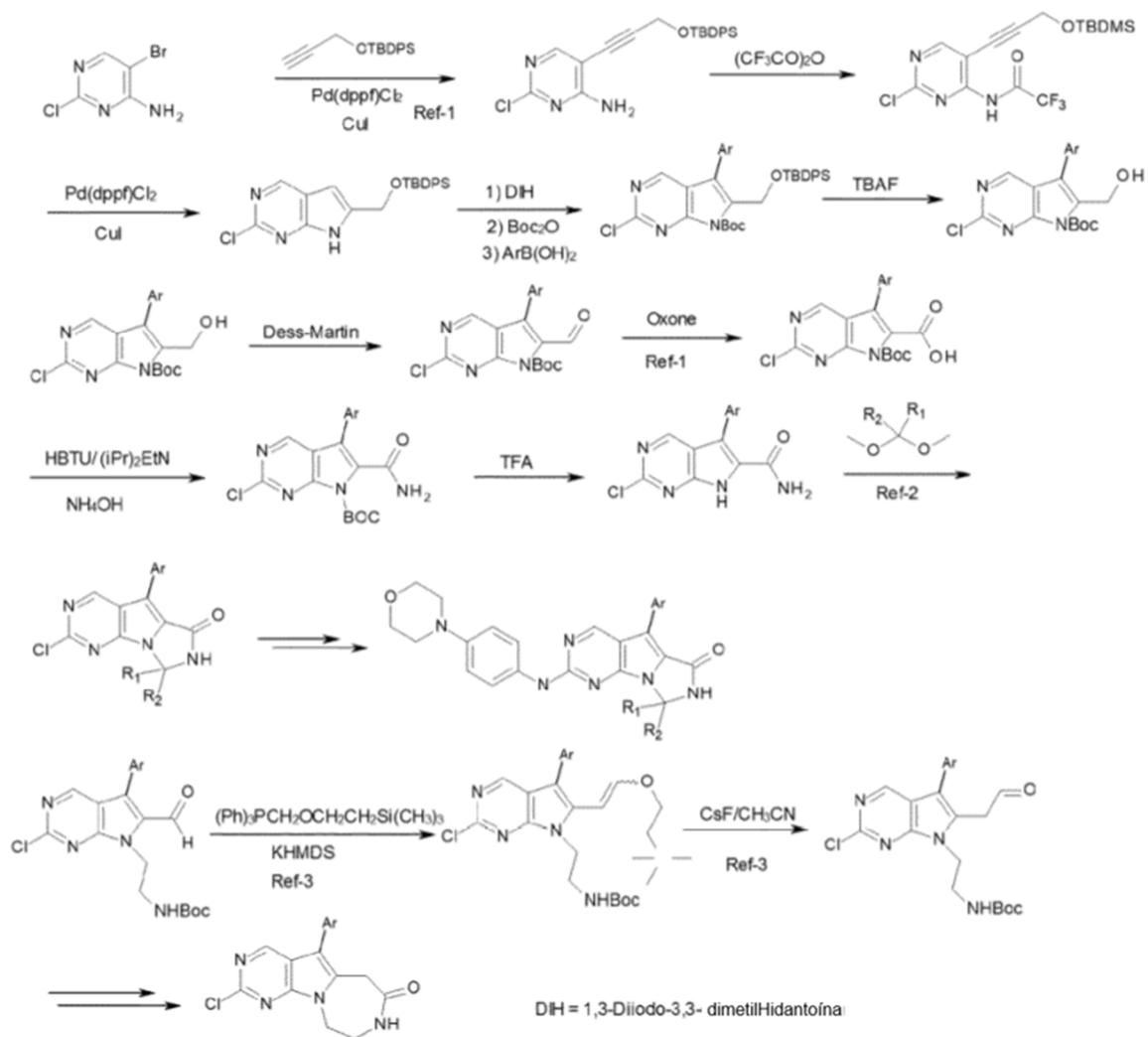
Esquema 6



Esquema 7

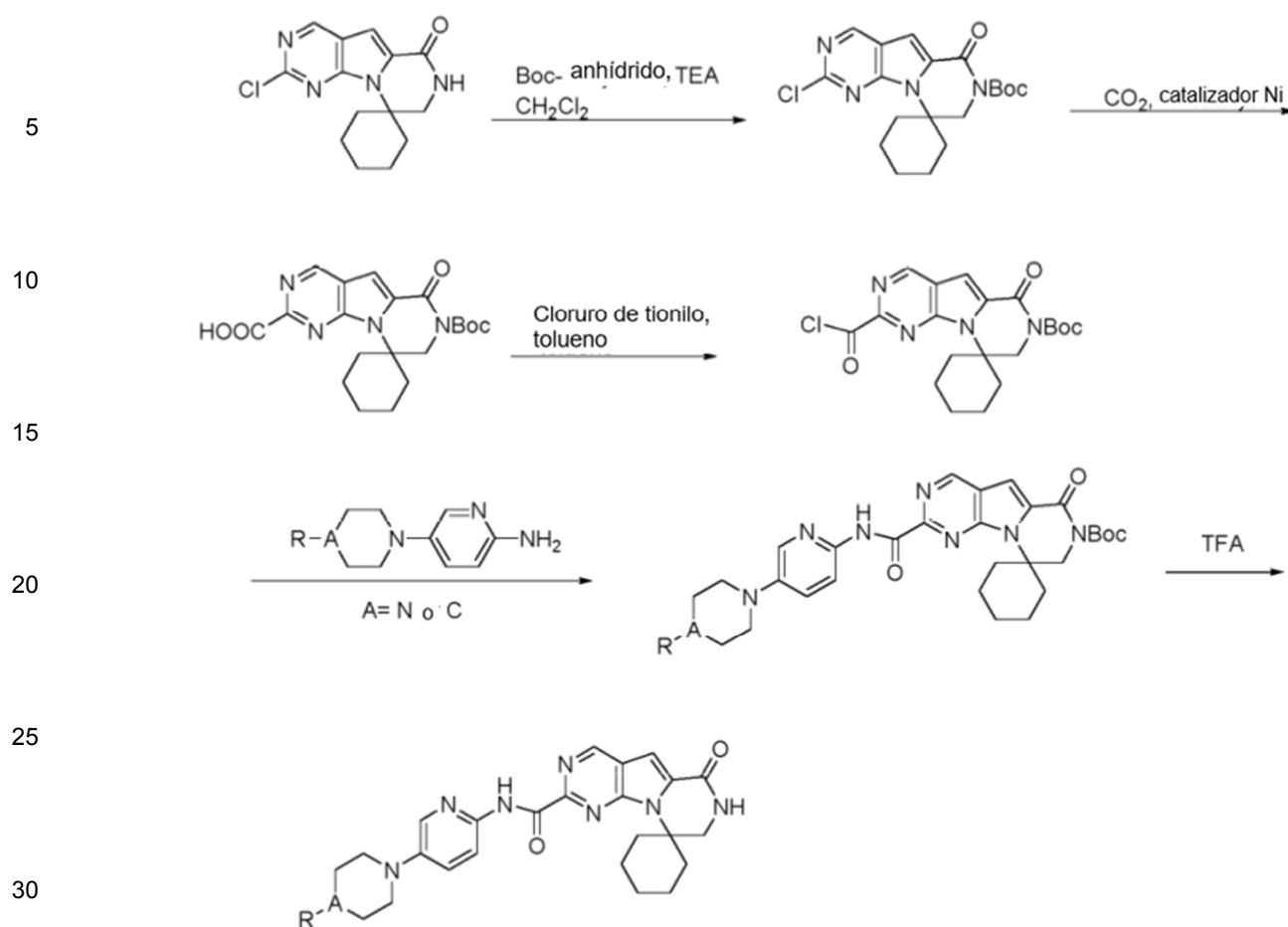


Esquema 8



Esquema 9

[0133] En el Esquema 9, Ref-1 es WO 2010/020675 A1; Ref-2 es el documento WO 2005/040166 A1; y Ref-3 es Schoenauer, K y Zbiral, E. Tetrahedron Letters 1983, 24, 573.



Esquema 10

[0134] En una realización, un intermedio de lactama se trata con BOC-anhídrido en presencia de una base orgánica como la trietilamina en un solvente orgánico como el diclorometano. La lactama protegida con Boc se trata con dióxido de carbono en presencia de un catalizador de níquel para generar un ácido carboxílico. El ácido carboxílico se hace reaccionar con cloruro de tionilo en presencia de un disolvente orgánico tal como tolueno. El cloruro de ácido resultante se trata con una amina para generar una amida que se puede desproteger con un ácido fuerte tal como ácido trifluoroacético para generar el compuesto inhibidor diana final.

[0135] Alternativamente, la lactama puede generarse haciendo reaccionar el ácido carboxílico con una amina protegida en presencia de un ácido fuerte y un agente deshidratante, que pueden estar juntos en un resto como un anhídrido de ácido fuerte. Los ejemplos de anhídridos de ácido fuertes incluyen, pero no se limitan a, anhídrido de ácido trifluoroacético, anhídrido de ácido tribromoacético, anhídrido de ácido tricloroacético o anhídridos mixtos. El agente deshidratante puede ser un compuesto a base de carbodiimida tal como, entre otros, DCC (*N,N*-diciclohexilcarbodiimida), EDC (1-etilo-3-(3-dimetilaminopropilo) carbodiimida o DIC (*N,N*-diisopropilcarbodiimida). La etapa puede ser necesaria para eliminar el grupo protector de N y los expertos en la técnica conocen las metodologías.

[0136] Alternativamente, el resto halógeno unido al anillo de pirimidina puede sustituirse con cualquier grupo saliente que pueda ser desplazado por un primario amina, p. ej., para crear un intermedio para un producto final tal como Br, I, F, SMe, SO₂ Me, SO₂ alquilo, SO₂ alquilo. Véase, p. ej., PCT/US2013/037878 de Tavares.

[0137] Otra amina Los expertos en la técnica pueden sintetizar compuestos intermedios y finales de amina. Se apreciará que la química puede emplear reactivos que comprenden funcionalidades reactivas que se pueden proteger y desproteger y que los expertos en la técnica conocerán en el momento de invención, p. ej., Greene, TW y Wuts, PGM, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, cuarta edición, John Wiley and Sons.

[0138] Fórmulas T, Q, GG y T fueron preparadas anteriormente se caracterizaron por espectrometría de masas y RMN como se muestra a continuación:

Fórmula T

7,25 (s, 1 H) 7,63 (br. S., 2 H) 7,94 (br. S., 1 H) 8,10 (br. S., 1 H) 8,39 (br. S., 1 H) 9,08 (br. S., 1 H) 11,59 (br. S., 1 H). LCMS ESI (M + H)₄47.

Fórmula Q

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,82 (d, *J* = 7,32 Hz, 2 H) 1,08 -1,37 (m, 3 H) 1,38 -1,64 (m, 2 H) 1,71 (br. S., 1 H) 1,91 (br. S., 1 H) 2,80 (br. S., 1 H) 3,12 (s, 1 H) 3,41 (br. S., 4 H) 3,65 (br. S., 4 H)₄,09 (br. S., 1 H) 7,26 (s, 1 H) 7,52 - 7,74 (m, 2 H) 7,94 (br. S., 1 H) 8,13 (br. s., 1 H) 8,40 (br. s., 1 H) 9,09 (br. s., 1 H) 9,62 (br. s., 1 H) 11,71 (br. s., 1 H). LCMS ESI (M + H) 433

Fórmula GG

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,85 (br. S., 1 H) 1,17 -1,39 (m, 7 H) 1,42 -1,58 (m, 2 H) 1,67 -1,84 (m, 3 H) 1,88 - 2,02 (m, 1 H) 2,76 - 2,93 (m, 1 H) 3,07 - 3,22 (m, 1 H) 3,29 - 3,39 (m, 1 H) 3,41 - 3,61 (m, 4 H) 3,62 - 3,76 (m, 4 H) 3,78 - 3,88 (m, 1 H)₄,12 (br. S., 1 H) 7,28 (s, 1 H) 7,60 - 7,76 (m, 2 H) 7,98 (s, 1 H) 8,13 (br. S., 1 H) 8,41 (s, 1 H) 9,10 (br. S., 1 H) 11,21 (br. S., 1 H) 11,54 (s, 1 H). LCMS ESI (M + H) 475

Fórmula U

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,84 (t, *J* = 7,61 Hz, 2 H) 1,13 -1,39 (m, 4 H) 1,46 (d, *J* = 14,05 Hz, 2 H) 1,64 -1,99 (m, 6 H) 2,21 (br. S., 1 H) 2,66 - 2,89 (m, 2 H) 3,06 (br. S., 1 H) 3,24 - 3,36 (m, 1 H) 3,37 - 3,50 (m, 2 H) 3,56 - 3,72 (m, 2 H) 3,77 - 4,00 (m, 4 H)₄,02 - 4,19 (m, 2 H) 7,25 (s, 1 H) 7,50 - 7,75 (m, 2 H) 7,89 (d, *J* = 2,93 Hz, 1 H) 8,14 (d, *J* = 7,32 Hz, 1 H) 8,38 (br. s., 1 H) 9,06 (s, 1 H) 11,53 (br. s., 1 H). LCMS ESI (M + H) 517

Compuestos activos, sales y formulaciones

[0139] Como se usa en el presente documento, el término "compuesto activo" se refiere a los compuestos inhibidores selectivos de CDK 4/6 descritos aquí o una sal farmacéuticamente aceptable o análogo isotópico de los mismos. El compuesto activo puede administrarse al sujeto mediante cualquier enfoque adecuado. La cantidad y el momento del compuesto activo administrado pueden, por supuesto, depender del sujeto a tratar, de la dosis de quimioterapia a la que se anticipa que el sujeto estará expuesto, en el transcurso del tiempo de la exposición al agente quimioterapéutico, de la manera de administración, en las propiedades farmacocinéticas del compuesto activo particular, y en el juicio del médico que prescribe. Por lo tanto, debido a la variabilidad de sujeto a sujeto, las dosis dadas a continuación son una guía y el médico puede valorar las dosis del compuesto para lograr el tratamiento que el médico considere apropiado para el sujeto. Al considerar el grado de tratamiento deseado, el médico puede equilibrar una variedad de factores como la edad y el peso del sujeto, la presencia de enfermedades preexistentes y la presencia de otras enfermedades. Las formulaciones farmacéuticas pueden prepararse para cualquier vía de administración deseada, que incluye, pero no se limita a, administración oral, intravenosa o en aerosol, como se discute en mayor detalle a continuación.

[0140] La dosificación terapéuticamente efectiva de cualquier compuesto activo descrito en este documento será determinada por el profesional de la salud dependiendo de la condición, el tamaño y la edad del paciente, así como la ruta de entrega. En una realización no limitada, una dosificación de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 mg/kg tiene eficacia terapéutica, y todos los pesos se calculan en función del peso del compuesto activo, incluidos los casos en los que se emplea una sal. En algunas realizaciones, la dosificación puede ser la cantidad de compuesto necesaria para proporcionar una concentración sérica del compuesto activo de hasta aproximadamente 1 y 5, 10, 20, 30 o 40 μM. En algunas realizaciones, una dosificación de aproximadamente Se pueden emplear de 10 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg para administración oral. Típicamente, se puede emplear una dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg a 5 mg/kg para inyección intramuscular. En algunas realizaciones, las dosis pueden ser de aproximadamente 1 μM o l/kg a aproximadamente 50 μM o l/kg, u, opcionalmente, entre alrededor de 22 μMol/kg y aproximadamente 33 μMol/kg del compuesto para la administración intravenosa o administración oral. Una forma de dosificación oral puede incluir cualquier cantidad apropiada de material activo, que incluye, p. ej., de 5 mg a 50, 100, 200 o 500 mg por tableta u otra forma de dosificación sólida.

[0141] De acuerdo con los métodos descritos actualmente, los compuestos farmacéuticamente activos como se describen en el presente documento pueden administrarse por vía oral como un sólido o como un líquido, o pueden administrarse por vía intramuscular, intravenosa o por inhalación como una solución, suspensión o emulsión. En algunas realizaciones, los compuestos o sales también pueden administrarse por inhalación, intravenosa o intramuscularmente como una suspensión liposomal. Cuando se administra por inhalación, el compuesto activo o la sal puede estar en forma de una pluralidad de partículas sólidas o gotas que tienen cualquier tamaño de partícula deseado y, p. ej., de aproximadamente 0,01, 0,1 o 0,5 a aproximadamente 5, 10, 20 o más micras, y opcionalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 micras. Los compuestos descritos en la presente invención han demostrado buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, p. ej., cuando se administran por vía oral o intravenosa.

[0142] En una realización de la invención, estos inhibidores de CDK4/6 mejorados pueden administrarse en un régimen concertado con un agente de factor de crecimiento sanguíneo. Como tal, en una realización, el uso de los compuestos y métodos descritos en el presente documento se combina con el uso de factores de crecimiento hematopoyéticos que incluyen, pero no se limitan a, factor de estimulación de colonias de granulocitos (G-CSF, p. ej.,

vendido como Neupogen (filgrastina), Neulasta (peg-filgrastina) o lenograstina), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF, por ejemplo vendido como molgramostim y sargramostim (Leukine)), M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos), trombopoyetina (factor de desarrollo de crecimiento de megacariocitos (MGDF), por ejemplo vendido como Romiplostim y Eltrombopag) interleucina (IL)-12, interleucina-3, interleucina-11 (factor inhibidor de la adipogénesis u oprelvekin)), SCF (factor de células madre, factor de acero, kit-ligando o KL) y eritropoyetina (EPO), y sus derivados (vendidos como, p. ej., epoyetina- α como Darbopoyetina, Epocept, Nanocina, Epofit, Epogin, Eprex y Procrit; epoyetina- β vendida como por ejemplo NeoRecormon, Recormon y Micera), epoyetina-delta (vendida como por ejemplo Dynepo), epoyetina-omega (vendida como por ejemplo Epomax), epoyetina zeta (vendida como por ejemplo Silapo y Reacrit) así como por ejemplo Epocept, EPOTrust, Erypro Safe, Repoeitina, Vintor, Epofit, Ericina, Wepox, Espogen, Relipoeitina, Shanpoeitina, Zyrop y EPIAO).

[0143] Las formulaciones farmacéuticas pueden comprender un compuesto activo descrito en este documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en cualquier portador farmacéuticamente aceptable. Si se desea una solución, el agua puede ser el vehículo elegido para compuestos o sales solubles en agua. Con respecto a los compuestos o sales solubles en agua, puede ser adecuado un vehículo orgánico, tal como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol o mezclas de los mismos. En el último caso, el vehículo orgánico puede contener una cantidad sustancial de agua. La solución en cualquier caso se puede esterilizar de una manera adecuada conocida por los expertos en la técnica, y para ilustración por filtración a través de un filtro de 0,22 micras. Después de la esterilización, la solución se puede dispensar en recipientes apropiados, tales como viales de vidrio depirogenado. La dispensación se realiza opcionalmente por un método aséptico. Se pueden colocar cierres esterilizados en los viales y, si se desea, el contenido del vial se puede liofilizar.

[0144] Además de los compuestos activos o sus sales, las formulaciones farmacéuticas pueden contener otros aditivos, tales como aditivos de ajuste de pH. En particular, los agentes de ajuste de pH útiles incluyen ácidos, tales como ácido clorhídrico, bases o tampones, tales como lactato de sodio, acetato de sodio, fosfato de sodio, citrato de sodio, borato de sodio o gluconato de sodio. Además, las formulaciones pueden contener conservantes antimicrobianos. Los conservantes antimicrobianos útiles incluyen metilparabeno, propilparabeno y alcohol bencílico. Normalmente se emplea un conservante antimicrobiano cuando la formulación se coloca en un vial diseñado para uso multidosis. Las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden liofilizarse usando técnicas bien conocidas en la técnica.

[0145] Para la administración oral, una composición farmacéutica puede tomar la forma de soluciones, suspensiones, tabletas, píldoras, cápsulas, polvos y similares. Se pueden emplear tabletas que contienen varios excipientes como citrato de sodio, carbonato de calcio y fosfato de calcio junto con varios desintegrantes como el almidón (p. ej., almidón de patata o tapioca) y ciertos silicatos complejos, junto con agentes aglutinantes como la polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y acacia. Además, los agentes lubricantes como el estearato de magnesio, el laurilsulfato de sodio y el talco a menudo son muy útiles para la formación de tabletas. Las composiciones sólidas de un tipo similar se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras. Los materiales a este respecto también incluyen lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones y/o elixires acuosos para la administración oral, los compuestos de la materia actualmente descrita se pueden combinar con diversos agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión, así como tales diluyentes como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y varias combinaciones similares de los mismos.

[0146] En otra realización más de la materia descrita en el presente documento, se proporciona una formulación inyectable, estable y estéril que comprende un compuesto activo como se describe en el presente documento, o una sal del mismo, en una forma de dosificación unitaria en un recipiente sellado. El compuesto o sal se proporciona en forma de un liofilizado, que puede reconstituirse con un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para formar una formulación líquida adecuada para la inyección del mismo en un sujeto. Cuando el compuesto o la sal es sustancialmente insoluble en agua, se puede emplear una cantidad suficiente de agente emulsionante, que es fisiológicamente aceptable, en cantidad suficiente para emulsionar el compuesto o la sal en un vehículo acuoso. Los agentes emulsionantes particularmente útiles incluyen fosfatidilcolinas y lecitina.

[0147] Las realizaciones adicionales proporcionan en este documento incluyen formulaciones liposomales de los compuestos activos descritos en el presente documento. La tecnología para formar suspensiones liposomales es bien conocida en la técnica. Cuando el compuesto es una sal soluble en agua, usando tecnología de liposomas convencional, se puede incorporar lo mismo en vesículas lipídicas. En tal caso, debido a la solubilidad en agua del compuesto activo, el compuesto activo se puede arrastrar sustancialmente dentro del centro o núcleo hidrofílico de los liposomas. La capa lipídica empleada puede ser de cualquier composición convencional y puede contener colesterol o puede estar libre de colesterol. Cuando el compuesto activo de interés es insoluble en agua, empleando nuevamente la tecnología convencional de formación de liposomas, la sal puede ser atrapada sustancialmente dentro de la bicapa lipídica hidrófoba que forma la estructura del liposoma. En cualquier caso, los liposomas que se producen pueden reducirse de tamaño, como a través del uso de técnicas estándar de sonicación y homogeneización. Las formulaciones liposomales que comprenden los compuestos activos descritos en la presente memoria pueden liofilizarse para producir un liofilizado, que puede reconstituirse con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua, para regenerar una suspensión liposomal.

[0148] También se proporcionan formulaciones farmacéuticas que son adecuadas para la administración como un aerosol por inhalación. Estas formulaciones comprenden una solución o suspensión de un compuesto deseado descrito aquí o una sal del mismo, o una pluralidad de partículas sólidas del compuesto o sal. La formulación deseada puede colocarse en una cámara pequeña y nebulizarse. La nebulización se puede lograr por aire comprimido o por energía ultrasónica para formar una pluralidad de gotas líquidas o partículas sólidas que comprenden los compuestos o sales. Las gotas líquidas o partículas sólidas pueden tener, p. ej., un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros, y opcionalmente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 micrómetros. Las partículas sólidas se pueden obtener procesando el compuesto sólido o una sal del mismo, de cualquier manera apropiada conocida en la técnica, tal como por micronización. Opcionalmente, el tamaño de las partículas o gotas sólidas puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 micras. A este respecto, los nebulizadores comerciales están disponibles para lograr este propósito. Los compuestos se pueden administrar a través de una suspensión en aerosol de partículas respirables de la manera expuesta en la patente de EE.UU. N° 5,628,984.

[0149] Cuando la formulación farmacéutica adecuada para la administración como un aerosol está en forma de un líquido, la formulación puede comprender un compuesto activo soluble en agua en un vehículo que comprende agua. Puede estar presente un tensioactivo, que disminuye la tensión superficial de la formulación lo suficiente como para dar lugar a la formación de gotas dentro del rango de tamaño deseado cuando se somete a nebulización.

[0150] El término "sales farmacéuticamente aceptables", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuadas para usar en contacto con sujetos (p. ej., sujetos humanos) sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica indebida, y similares, proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable, y efectivos para su uso previsto, así como las formas zwitteriónicas, cuando sea posible, de los compuestos de la materia actualmente descrita.

[0151] Por lo tanto, el término "sales" se refiere a las sales de adición de ácido inorgánico y orgánico relativamente no tóxicas de los compuestos de la materia actualmente descrita. Estas sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal así formada. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables pueden formarse con metales o aminas, tales como hidróxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos, o de aminas orgánicas. Los ejemplos de metales utilizados como cationes incluyen, entre otros, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares. Los ejemplos de aminas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metilglucamina y procaina.

[0152] Las sales se pueden preparar a partir de ácidos inorgánicos sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, nitrato, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, tales como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fósforo y similares. Las sales representativas incluyen el bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, mesilato de naftilato, sales de glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato e isetonato, y similares. Las sales también se pueden preparar a partir de ácidos orgánicos, tales como ácidos mono y dicarboxílicos alifáticos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Las sales representativas incluyen acetato, propionato, caprilato, isobutirato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, mandelato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, ftalato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, fenilacetato, citrato, lactato, maleato, maleato, metanosulfonato y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como también cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina que incluyen, entre otros, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina y similares. También se contemplan las sales de aminoácidos tales como arginato, gluconato, galacturonato y similares. Ver, p. ej., Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19.

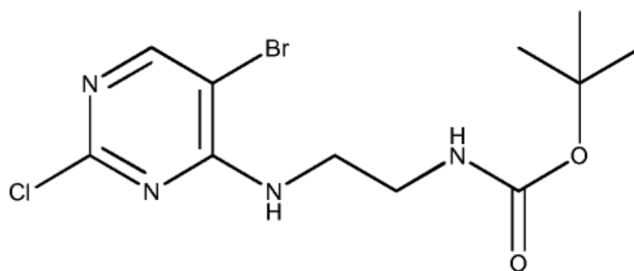
EJEMPLOS

[0153] Los intermedios B, E, K, L, 1A, IF y 1CA se sintetizaron de acuerdo con el documento US 8,598,186 titulado inhibidores de CDK para Tavares, FX y Strum, JC.

Ejemplo 1

Síntesis de terc-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4il)amino]etilo]carbamato, Compuesto 1

[0154]

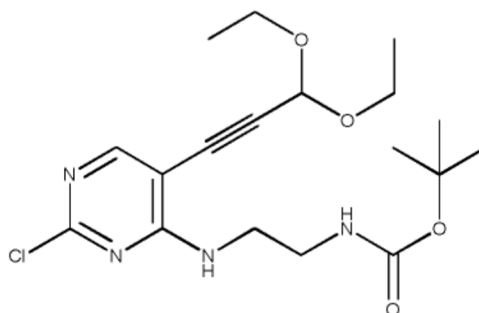


[0155] A una solución de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (3,2 g, 0,0135 mol) en etanol (80 ml) se le añadió la base de Hunig (3,0 ml) seguido de la adición de una solución de *n*-(*tert*-butoxicarbonilo)-1,2-diaminoetano (2,5 g, 0,0156 moles) en etanol (20 ml). Los contenidos se agitaron durante la noche durante 20 h. El disolvente se evaporó al vacío. Se añadieron acetato de etilo (200 ml) y agua (100 ml) y las capas se separaron. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío. La cromatografía en columna sobre gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-60%) proporcionó N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato de *tert*-butilo. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ ppm 8,21 (s, 1H), 7,62 (brs, 1H), 7,27 (brs, 1H), 3,39 (m, 2H), 3,12 (m, 2H), 1,34 (s, 9H). LCMS (ESI) 351 (M + H).

Ejemplo 2

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato, Compuesto 2

[0156]

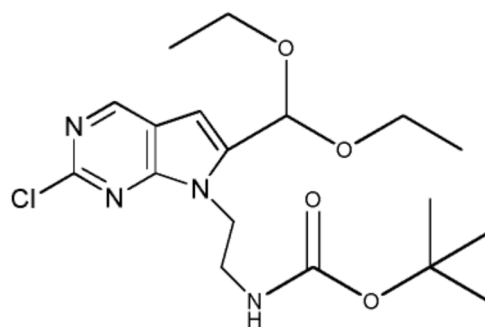


[0157] A *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato (1,265 g, 3,6 mmol) en THF (10 mL) se le añadió el acetal (0,778 ml, 5,43 mmol), Pd(dppf)CH₂Cl₂ (148 mg), y trietilamina (0,757 ml, 5,43 mmol). Los contenidos se desgaseificaron y luego se purgaron con nitrógeno. A esto se le añadió luego CuI (29 mg). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 48 h. Después de enfriar, los contenidos se filtraron sobre CELITE™ y se concentraron. La cromatografía en columna del residuo resultante usando hexano/acetato de etilo (0-30%) proporcionó *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ ppm 8,18 (s, 1H), 7,63 (brs, 1H), 7,40 (brs, 1H), 5,55 (s, 1H), 3,70 (m, 2H), 3,60 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 1,19 - 1,16 (m, 15H). LCMS (ESI) 399 (M + H).

Ejemplo 3

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato, Compuesto 3

[0158]

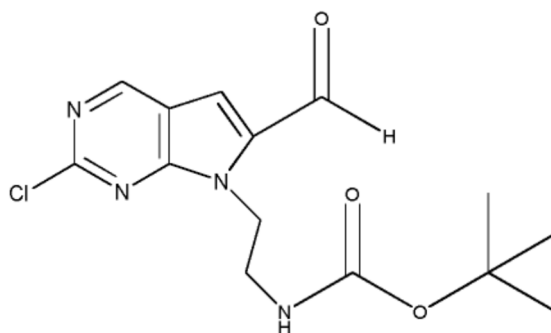


[0159] A una solución del producto acoplado (2,1 g, 0,00526 moles) en THF(30 ml) se le añadió sólido TBAF (7,0 g). Los contenidos se calentaron y se mantuvieron a 65 grados durante 2 hs. La concentración seguida de cromatografía en columna usando acetato de etilo/hexano (0-50%) proporcionó *tert*-butilo N-[2-(2-cloro-6-(diethoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]carbamato como un líquido marrón pálido (1,1 g). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 8,88 (s, 1H), 6,95 (brs, 1H), 6,69 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 4,29 (m, 2H), 3,59 (m, 4H), 3,34 (m, 1H), 3,18 (m, 1H), 1,19 (m, 9H), 1,17 (m, 6H). LCMS (ESI) 399 (M + H).

Ejemplo 4

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-(2-cloro-6-formil-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]carbamato, Compuesto 4

[0160]

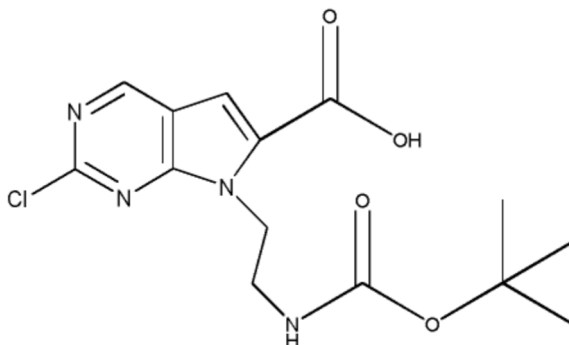


[0161] Al acetal (900 mg) del Paso anterior se añadió AcOH (8,0 ml) y agua (1,0 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Conc. y la cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexanos (0-60%) proporcionó *tert*-butilo N-[2-(2-cloro-6-formil-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]carbamato como una espuma (0,510 g). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,98 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,80 (brs, 1H), 4,52 (m, 2H), 4,36 (m, 2H), 1,14 (s, 9H). LCMS (ESI) 325 (M + H).

Ejemplo 5

Síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 5

[0162]

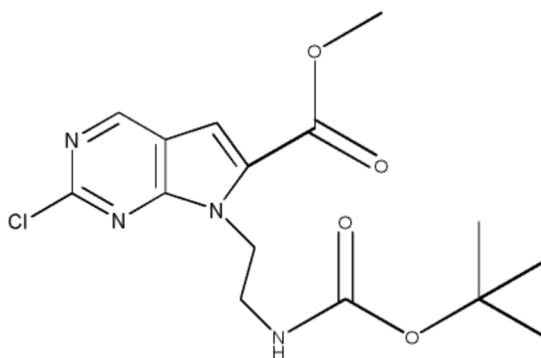


[0163] Al aldehído (0,940 g) del Paso anterior en DMF (4 ml) se le añadió oxona (1,95 g, 1,1 eq). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 7 h. La cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-100%) proporcionó ácido 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico (0,545 g) ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,11 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 4,38 (m, 2H), 4,15 (m, 2H), 1,48 (m, 9H). LCMS (ESI) 341 (M + H).

Ejemplo 6

Síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-carboxilato de metilo, Compuesto 6

[0164]

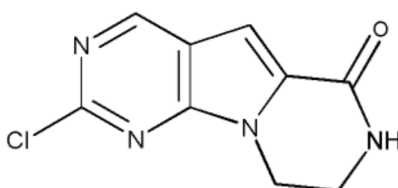


[0165] A una solución de 2-Ácido cloro-7-propilo-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico (0,545 g, 0,00156 moles) del Paso anterior en tolueno (3,5 ml) y MeOH (1 ml) se añadió TMS-diazometano (1,2 mL). Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, el exceso de TMS-diazometano se inactivó con ácido acético (3 ml) y la reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con hexano/acetato de etilo (0-70%) para proporcionar metilo 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-carboxilato como un sólido blanquecino (0,52 g). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,10 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,81 (brs, 1H) 4,60 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,29 (m, 2H), 1,18 (m, 9H) LCMS (ESI) 355 (M + H).

Ejemplo 7

Síntesis de amida clorotricíclica, Compuesto 7

[0166]

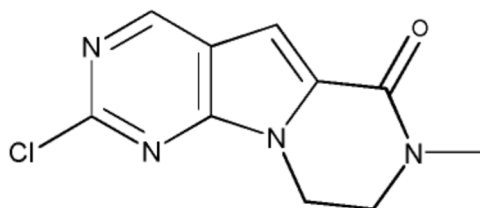


[0167] A metilo 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-Se añadió TFA (0,830 ml) de cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-carboxilato (0,50 g, 0,0014 moles) del Paso anterior en diclorometano (2,0 ml). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 1 h. La concentración al vacío proporcionó el amino éster crudo que se suspendió en tolueno (5 ml) y la base de Hunig (0,5 ml). Los contenidos se calentaron a reflujo durante 2 h. La concentración seguida por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-50%) proporcionó la amida clorotricíclica deseada (0,260 g). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,08 (s, 1H), 8,48 (brs, 1H), 7,21 (s, 1H) 4,33 (m, 2H), 3,64 (m, 2H). LCMS (ESI) 223 (M + H).

Ejemplo 8

Síntesis de amida de cloro-N-metiltricíclico, Compuesto 8

[0168]

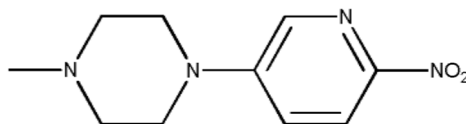


[0169] A una solución de cloro triciclolactama, Compuesto 7, (185 mg, 0,00083 moles) en DMF (2,0 ml) se le añadió hidruro de sodio (55%) dispersión en aceite, 52 mg). Después de agitar durante 15 minutos, yoduro de metilo (62 ml, 1,2 eq). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de la adición de metanol (5 ml), se sentó NaHCO_3 se añadió seguido por la adición de acetato de etilo. La separación de la capa orgánica seguida del secado con sulfato de magnesio y la concentración al vacío produjeron la amida N-metilada con rendimiento cuantitativo. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,05 (s, 1H), 7,17 (s, 1H) 4,38 (m, 2H), 3,80 (m, 2H), 3,05 (s, 3H). LCMS (ESI) 237 (M + H).

Ejemplo 9

Síntesis de 1-metilo-4-(6-nitro-3-piridilo)piperazina, compuesto 9

[0170]

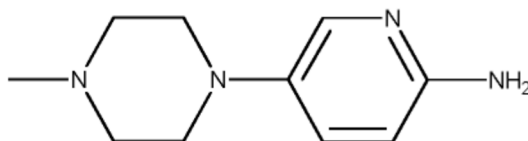


[0171] A 5-bromo-2-nitropiridina (4,93 g, 24,3 mmoles) en DMF (20 ml) se añadió N-metilpiperazina (2,96 g, 1,1 eq) seguido de la adición de DIPEA (4,65 ml, 26,7 mmoles). El contenido se calentó a 90 grados durante 24 h. Después de la adición de acetato de etilo (200 ml), se añadió agua (100 ml) y las capas se separaron. El secado seguido de la concentración proporcionó el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando (0-10%) DCM/Metanol. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 8,26 (s, 1H), 8,15 (1H, d, J = 9,3 Hz), 7,49 (1H, d, J = 9,4 Hz), 3,50 (m, 4H), 2,49 (m, 4H), 2,22 (s, 3H).

Ejemplo 10

Síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina, Compuesto 10

[0172]

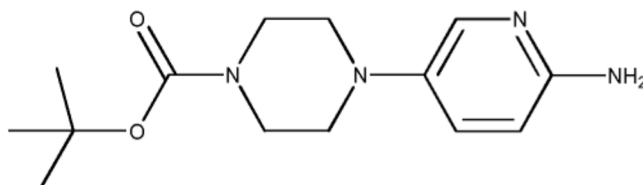


[0173] A 1-metilo Se añadió-4-(6-nitro-3-piridilo)piperazina (3,4 g) en acetato de etilo (100 ml) y etanol (100 ml) Pd al 10%/C (400 mg) y luego la reacción se agitó en hidrógeno (10 psi) durante la noche. Después de la filtración a través de CELITE TM, los solventes se evaporaron y el producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/7N amoniaco en MeOH (0-5%) para proporcionar 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina (2,2 g). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 7,56 (1H, d, J = 3 Hz), 7,13 (1H, m), 6,36 (1H, d, J = 8,8 Hz), 5,33 (brs, 2H), 2,88 (m, 4H), 2,47 (m, 4H), 2,16 (s, 3H).

Ejemplo 11

Síntesis de 4-(6-amino-3-piridilo)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo, Compuesto 11

[0174]

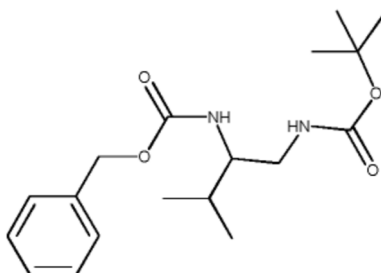


[0175] Este compuesto se preparó como se describe en el documento WO 2010/020675 A1.

Ejemplo 12

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-(benciloxycarbonilamino)-3-metilo-butilo]carbamato, Compuesto 12

[0176]



[0177] A bencilo N-[1-(hidroximetilo)-2-metilo-propilo]carbamato (11,0 g, 0,0464 moles) en dioxano (100 ml) enfriado a 0°C se añadió difenilfosforilazida (10,99 ml, 1,1 eq) seguido de la adición de DBU (8,32 ml, 1,2 eq). Los contenidos se dejaron calentar a temperatura ambiente y se agitaron durante 16 h. Después de la adición de acetato de etilo (300 ml) y agua (100 ml), la capa orgánica se separó y se lavó con sat. NaHCO₃ (100 ml). La capa orgánica se secó luego (sulfato de magnesio) y se concentró al vacío. A este intermedio en DMSO (100 ml) se añadió azida sódica (7,54 g) y luego el contenido se calentó a 90 grados durante 2 h. Después de la adición de acetato de etilo y agua, las capas se separaron. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio seguido de concentración al vacío para proporcionar un aceite que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-70%) para proporcionar bencilo N-[1-(azidometilo)-2-metilo-propilo]carbamato 6,9 g como un aceite incoloro.

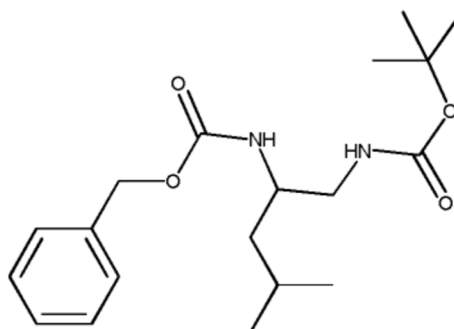
[0178] A bencilo N-[1-(azidometilo)-2-metilo-propilo]carbamato (6,9 g, 0,0263 moles) en THF (100 ml) se añadió trifenilfosfina (7,59 g, 1,1 eq). Los contenidos se agitaron durante 20 h. Después de la adición de agua (10 ml) y agitar durante 6 horas adicionales, se añadió acetato de etilo y las capas se separaron. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/MeOH (0-10 %) para proporcionar bencilo N-[1-(aminometilo)-2-metilo-propilo]carbamato como un aceite amarillo

[0179] Al bencilo N-[1-(aminometilo)-2-metilo-propilo]carbamato (4,65 g, 0,019 moles) en THF (70 ml) se añadió 2 N NaOH (20 ml) seguido de la adición de di-*tert*-dicarbonato de butilo (5,15 g, 1,2 eq). Después de agitar durante 16 horas, se añadió acetato de etilo y las capas se separaron. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el producto bruto se purificó usando hexano/acetato de etilo (0-40%) sobre una columna de gel de sílice para proporcionar el intermedio A, *tert*-butilo N-[2-(benciloxycarbonilamino)-3-metilo-butilo]carbamato, (6,1 g). ¹H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,89 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 0,92 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 1,38 (s, 9 H) 1,70 -1,81 (m, 1 H) 3,18 (d, *J* = 5,56 Hz, 2 H) 3,47 - 3,60 (m, 1 H)₄,76 (s, 1 H)₄,89 (d, *J* = 7,90 Hz, 1 H) 5,07 (s, 2 H) 7,25 - 7,36 (m, 5 H). LCMS (ESI) 337 (M + H).

Ejemplo 13

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-(benciloxycarbonilamino)-4-metilo-pentilo]carbamato, Compuesto 13

[0180]



[0181] A una solución de bencilo N-[1-(hidroximetilo)-3-metilo-butilo]carbamato (6,3 g, 0,025 moles) en DCM (100 ml) se añadió diisopropiletilamina (5,25 ml, 1,2 eq) seguido de la adición de cloruro de metanosulfonilo (2,13 ml, 1,1 eq) a 0 grados. Después de agitar durante 3 h, se añadió agua (100 ml) y se separó la capa orgánica. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, [2-(benciloxicarbonilamino)-4-metilo-pentilo]metanosulfonato bruto que se llevó directamente al siguiente paso.

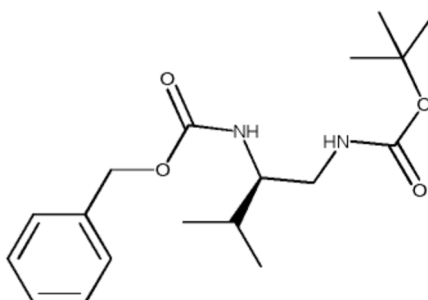
[0182] A [2-(benciloxicarbonilamino)-4-metilo-pentilo]metanosulfonato bruto de la reacción anterior en DMF (50 ml), se añadió azida de sodio 2,43 g. La mezcla de reacción se calentó luego a 85 grados durante 3 h. Después de enfriar, se añadió acetato de etilo (300 ml) y agua. La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar el bencilo crudo N-[1-(azidometilo)-3-metilo-butilo]carbamato. A este intermedio crudo se le añadió THF (100 ml) seguido de trifenilfosfina 7,21 g y se agitó bajo nitrógeno durante 16 h. Después de la adición de agua (10 ml) y agitar durante 6 horas adicionales, se añadió acetato de etilo y las capas se separaron. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el producto bruto se sometió a una columna usando DCM/MeOH (0-10 %) para proporcionar N-[1-(aminometilo)-3-metilo-butilo]carbamato de bencilo (4,5 g).

[0183] A bencilo N-[1-(aminometilo)-3-metilo-butilo]carbamato (4,5 g, 0,018 moles) en THF (60 ml) se le añadió 2 N NaOH (18 ml) seguido de la adición de di-*terc*-dicarbonato de butilo (4,19 g, 1,07 eq). Después de agitar durante 16 horas, se añadió acetato de etilo y las capas se separaron. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el producto bruto se llevó al siguiente paso. ¹H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,89 (d, *J* = 6,73 Hz, 6 H) 1,25 -1,34 (m, 1 H) 1,39 (s, 9 H) 1,57 -1,71 (m, 2 H) 3,04 - 3,26 (m, 2 H) 3,68 - 3,80 (m, 1 H)₄,72 - 4,89 (m, 2 H) 5,06 (s, 2 H) 7,25 - 7,38 (m, 5 H). LCMS (ESI) 351 (M + H).

Ejemplo 14

Síntesis de *terc*-butilo N-[(2R)-2-(benciloxicarbonilamino)-3-metilo-butilo]carbamato, Compuesto 14

[0184]

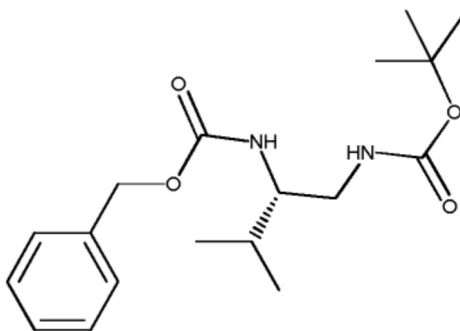


[0185] El compuesto 14 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1R)-1-(hidroximetilo)-2-metilo-propilo]carbamato usando pasos sintéticos similares a los descritos para el Compuesto 13. Los datos analíticos (RMN y especificación de masa) fueron consistente con eso para el Compuesto 12.

Ejemplo 15

Síntesis de *terc*-butilo N-[(2S)-2-(benciloxicarbonilamino)-3-metilo-butilo]carbamato, Compuesto 15

[0186]

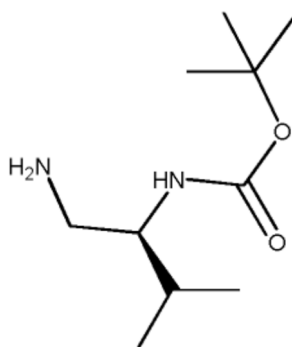


[0187] El compuesto 15 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1S)-1-(hidroximetilo)-2-metilo-propilo]carbamato usando etapas sintéticas similares a la descrita para el 13. Los datos analíticos de compuestos (RMN y masas espec.) fue consistente con la del Compuesto 12.

Ejemplo 16

Síntesis de *tert*-butilo N-[(1S)-1-(aminometilo)-2-metilo-propilo]carbamato, Compuesto 16

[0188]



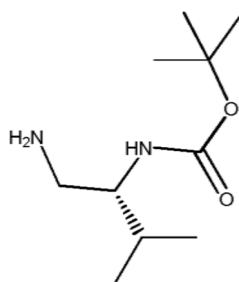
[0189] A una solución de carbamato de *tert*-butilo N-[(1S)-1-(hidroximetilo)-2-metilo-propilo]carbamato (6,3 g, 0,025 moles) en THF(100 ml) se añadió diisopropiletilamina (5,25 ml, 1,2 eq) seguido de la adición de cloruro de metanosulfonilo (2,13 mL, 1,1 eq) a 0 grados. Después de agitar durante 3 h, se añadió agua (100 ml) y se separó la capa orgánica. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el[(2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-metilbutil]metanosulfonato bruto se llevó directamente al siguiente paso.

[0190] A [(2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-metilo-butilo]metanosulfonato bruto de la reacción anterior en DMSO (50 ml), se le añadió azida de sodio (2,43 g). La mezcla de reacción se calentó luego a 85 grados durante 3 h. Después de enfriar, se añadieron acetato de etilo (300 ml) y agua. La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar el bencilo crudo N-[1-(azidometilo)-3-metilo-butilo]carbamato. A este intermedio bruto se le añadió THF(100 ml) seguido de trifenilfosfina (7,21 g) y la reacción se agitó en nitrógeno durante 16 h. Después de la adición de agua (10 ml) y agitar durante 6 horas adicionales, se añadió acetato de etilo y las capas se separaron. Después de secar con sulfato de magnesio y concentrar al vacío, el producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/MeOH (0 - 10%) para proporcionar bencilo N-[1-(aminometilo)-3-metilbutil]carbamato (4,5 g) LCMS (ESI) 203 (M + H).

Ejemplo 17

Síntesis de *tert*-butilo N-[(1R)-1-(aminometilo)-2-metilo-propilo]carbamato, Compuesto 17

[0191]

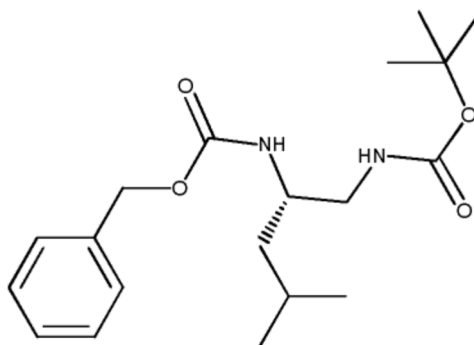


[0192] El Compuesto 17 se sintetizó a partir de *tert*-butilo N-[(1R)-1-(hidroximetilo)-2-metilpropilo]carbamato usando una secuencia sintética similar a la descrita para el Compuesto 16. Los datos analíticos (RMN y especificación de masa) fueron consistentes con el Compuesto 16.

Ejemplo 18

Síntesis de *tert*-butilo N-[(2S)-2-(benciloxycarbonilamino)-4-metilo-pentilo]carbamato, Compuesto 18

[0193]

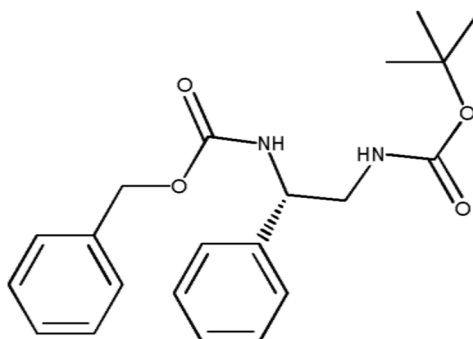


[0194] El Compuesto 18 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1S)-1-(hidroximetilo)-3-metilbutil]carbamato usando un secuencia sintética similar a la descrita para el Compuesto 13. Los datos analíticos (RMN y especificación de masa) fueron consistentes con el Compuesto 13.

Ejemplo 19

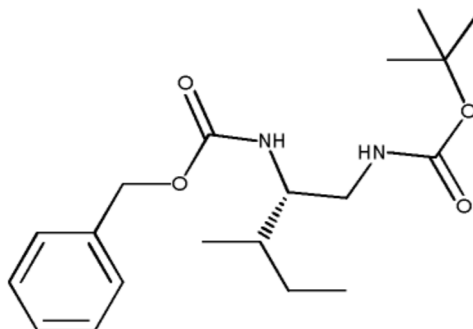
Síntesis de *tert*-butilo N-[(2S)-2-(benciloxycarbonilamino)-2-fenilo-etilo]carbamato, Compuesto 19

[0195]

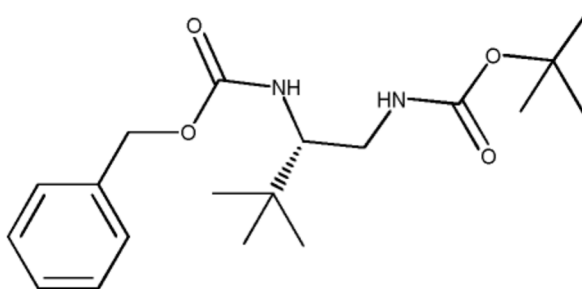


[0196] El Compuesto 19 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1S)-2-hidroxi-1-fenilo-etilo]carbamato usando una secuencia sintética similar a la de descrito para el Compuesto 13. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,20 - 1,33 (m, 9 H) 3,11 (t, *J* = 6,29 Hz, 2 H) 4,59 - 4,68 (m, 1 H) 4,88 - 5,01 (m, 2 H) 6,81 (t, *J* = 5,42 Hz, 1 H) 7,14 - 7,35 (m, 10 H) 7,69 (d, *J* = 8,49 Hz, 1 H). LCMS (ESI) 371 (M + H).

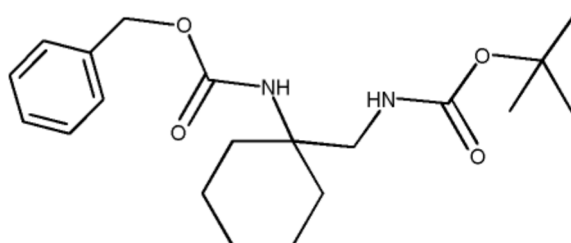
Ejemplo 20

Síntesis de *tert*-butilo N-[(2S)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-metilo-pentilo]carbamato, Compuesto 20**[0197]**

[0198] El Compuesto 20 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1S)-1-(hidroximetilo)-2-metilo-butilo]carbamato usando una secuencia sintética similar a la descrita para el Compuesto 13. ^1H RMN (600 MHz, $\text{ClO}_2\text{FORMO}-d$) δ ppm 0,85 - 0,92 (m, 6 H) 1,05 - 1,15 (m, 1 H) 1,35 - 1,41 (m, 9 H) 1,45 - 1,56 (m, 2 H) 3,14 - 3,24 (m, 2 H) 3,54 - 3,64 (m, 1 H) 4,78 (s, 1 H) 4,96 (d, $J = 7,91$ Hz, 1 H) 5,06 (s, 2 H) 7,27 - 7,37 (m, 5 H). LCMS (ESI) 351 (M + H).

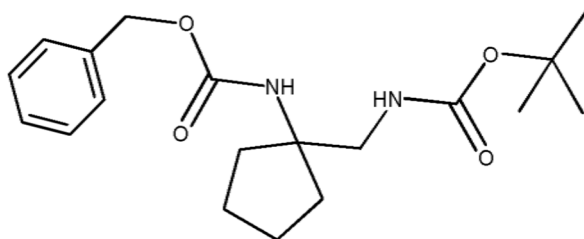
Ejemplo 21**Síntesis de *tert*-butilo N-[(2S)-2-(benciloxycarbonilamino)-3,3-dimetilo-butilo]carbamato, Compuesto 21****[0199]**

[0200] El Compuesto 21 se sintetizó a partir de bencilo N-[(1S)-1-(hidroximetilo)-2,2-dimetilpropilo]carbamato usando una secuencia sintética similar a la descrita para el Compuesto 13. LCMS (ESI) 351.

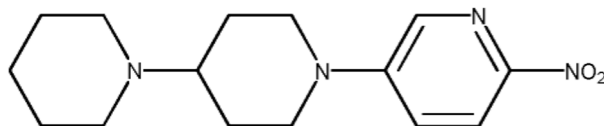
Ejemplo 22**Síntesis de *tert*-butilo N-[[1-(benciloxycarbonilamino)ciclohexilo]metilo]carbamato, Compuesto 22****[0201]**

[0202] A una solución de bencilo N-[1-(aminometilo)ciclohexilo]carbamato (10,0 g, 0,0381 mol) en THF(150 ml) se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (9,15 g, 1,1 eq) y los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 16 h. Luego se añadieron acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar N-[[1-(benciloxycarbonilamino)ciclohexilo]metilo]carbamato de *tert*-butilo (13,1 g). ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,92 - 1,54 (m, 17 H) 1,76 - 2,06 (m, 2 H) 3,09 (d, $J = 6,15$ Hz, 2 H) 4,92 (s, 2 H) 6,63 (d, $J = 17,27$ Hz, 1 H) 7,16 - 7,49 (m, 6 H). LCMS (ESI) 363 (M + H).

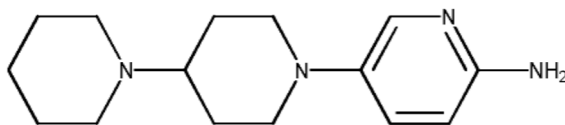
Ejemplo 23

Síntesis de carbamato de *tert*-butilo N-[[1-(benciloxycarbonilamino) ciclopentil]metilo], Compuesto 23**[0203]**

[0204] *tert*-butilo N-[[1-(benciloxycarbonilamino) ciclopentil]metilo]carbamato se sintetizó en de manera análoga al *tert*-butilo N-[[1-(benciloxycarbonilamino)ciclohexilo]metilo]carbamato. LCMS (ESI) 349 (M + H).

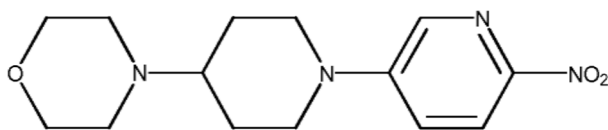
Ejemplo 24**Síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina, Compuesto 24****[0205]**

[0206] A 5-bromo-2-nitropiridina (1,2 g, 5,9 mmol) en DMSO (4 ml) se le añadió 1-(4-piperidilo)piperidina (1,0 g, 5,9 mmoles) y trietilamina (0,99 ml, 7,1 mmoles). El contenido se calentó a 120°C en un sistema de microondas CEM Discovery durante 3 h. La reacción cruda se purificó luego por cromatografía en columna de gel de sílice con DCM/metanol (0-20%) para proporcionar 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina como un aceite (457 mg). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,26 -1,36 (m, 2 H) 1,43 (m, 6 H) 1,76 (m, 2 H) 2,37 (m, 5 H) 2,94 (t, J = 12,74 Hz, 2 H) 4,06 (d, J = 13,47 Hz, 2 H) 7,41 (dd, J = 9,37, 2,64 Hz, 1 H) 8,08 (d, J = 9,37 Hz, 1 H) 8,20 (d, J = 2,64 Hz, 1 H).

Ejemplo 25**Síntesis de 5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina-2-amina, Compuesto 25****[0207]**

[0208] 5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina-2-amina se preparó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,13 - 1,37 (m, 6 H) 1,40 - 1,63 (m, 6 H) 1,71 (m, 2 H), 2,24 (m, 1H) 2,43 (m, 2 H) 3,33 (d, J = 12,30 Hz, 2 H) 5,31 (s, 2 H) 6,33 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 7,10 (dd, J = 8,78, 2,93 Hz, 1 H) 7,55 (d, J = 2,64 Hz, 1 H). LCMS (ESI) 261 (M + H).

Ejemplo 26**Síntesis de 4-[1-(6-nitro-3-piridilo)-4-piperidilo]morfolina, Compuesto 26****[0209]**

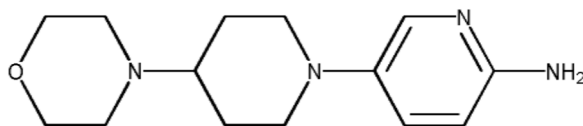


[0210] 4-[1-(6-nitro-3-piridilo)-4-la piperidilo]morfolina se sintetizó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,41 (m, 2 H) 1,82 (m, 2 H) 2,42 (m, 5 H) 2,98 (t, $J = 12,44$ Hz, 2 H) 3,52 (s, 4 H) 4,04 (d, $J = 12,88$ Hz, 2 H) 7,42 (d, $J = 9,37$ Hz, 1 H) 8,08 (d, $J = 9,08$ Hz, 1 H) 8,21 (s, 1 H).

Ejemplo 27

Síntesis de 5-(4-morfolino-1-piperidilo)piridina-2-amina, Compuesto 27

[0211]

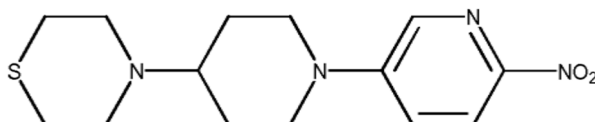


[0212] 5-(4 Se preparó -morfolino-1-piperidilo)piridina-2-amina de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,34 -1,52 (m, 2 H) 1,78 (m, 2 H) 2,14 (m, 1 H) 2,43 (m, 4 H) 3,32 (d, $J = 12,30$ Hz, 4 H) 3,47 - 3,59 (m, 4 H) 5,32 (s, 2 H) 6,34 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,11 (dd, $J = 8,93$, 2,78 Hz, 1 H) 7,47 - 7,62 (m, 1 H). LCMS (ESI) 263 (M + H).

Ejemplo 28

Síntesis de 4-[1-(6-nitro-3-piridilo)-4-piperidilo] tiomorfolina, Compuesto 28

[0213]

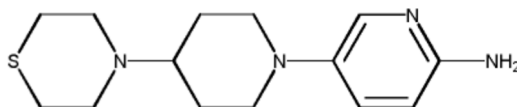


[0214] 4-[1-(6-nitro-3-piridilo)-4-piperidilo]tiomorfolina se sintetizó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,40 -1,52 (m, 2 H) 1,71 (m, 2 H) 2,49 - 2,55 (m, 4 H) 2,56 - 2,63 (m, 1 H) 2,68 - 2,75 (m, 4 H) 2,88 - 2,98 (m, 2 H) 4,09 (d, $J = 13,18$ Hz, 2 H) 7,42 (dd, $J = 9,22$, 3,07 Hz, 1 H) 8,08 (d, $J = 9,37$ Hz, 1 H) 8,20 (d, $J = 3,22$ Hz, 1 H).

Ejemplo 29

Síntesis de 5-(4-tiomorfolino-1-piperidilo)piridina-2-amina, Compuesto 29

[0215]



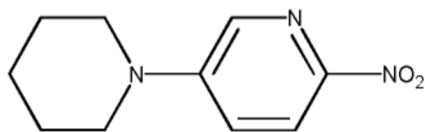
[0216] 5-(4-tiomorfolino-1-piperidilo)piridina-2-amina se preparó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,47 -1,59 (m, 2 H) 1,65 (m, 2 H) 2,22 - 2,38 (m, 1 H) 2,50 - 2,59 (m, 6 H) 2,68 - 2,82 (m, 4 H) 3,33 (d, $J = 12,00$ Hz, 2 H) 5,31 (s, 2 H) 6,33 (d, $J = 9,08$ Hz, 1 H) 7,10 (dd, $J = 8,78$, 2,93 Hz, 1 H) 7,55 (d, $J = 2,64$ Hz, 1 H). LCMS (ESI) 279 (M + H).

Ejemplo 30

Síntesis de 2-nitro-5-(1-piperidilo)piridina, El Compuesto 30

[0217]

5



10 **[0218]** (1-piperidilo)piridina se sintetizó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,56 (m, 6 H) 3,49 (d, *J* = 4,39 Hz, 4 H) 7,30 - 7,47 (m, 1 H) 8,02 - 8,12 (m, 1 H) 8,15-8,26 (m, 1 H).

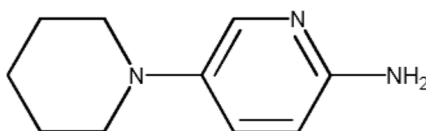
Ejemplo 31

15

Síntesis de 5-(1-piperidilo)piridina-2-amina, Compuesto 31

[0219]

20



25

30 **[0220]** 5-(1-piperidilo)piridina Se preparó 2-amina de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,39 -1,46 (m, 2 H) 1,51 -1,62 (m, 4 H) 2,75 - 2,92 (m, 4 H) 5,30 (s, 2 H) 6,34 (d, *J* = 8,78 Hz, 1 H) 7,09 (dd, *J* = 8,78, 2,93 Hz, 1 H) 7,54 (d, *J* = 2,93 Hz, 1 H). LCMS (ESI) 178 (M + H).

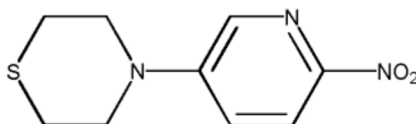
Ejemplo 32

35

Síntesis de 4-(6-nitro-3-piridilo)tiomorfolina, el Compuesto 32

[0221]

40



45 **[0222]** 4-(6-nitro-3-piridilo)tiomorfolina se sintetizó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,56 - 2,69 (m, 4 H) 3,79 - 3,92 (m, 4 H) 7,43 (dd, *J* = 9,22, 3,07 Hz, 1 H) 8,10 (d, *J* = 9,37 Hz, 1 H) 8,20 (d, *J* = 2,93 Hz, 1 H).

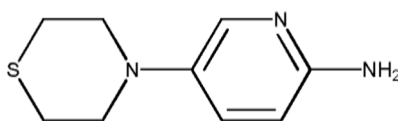
Ejemplo 33

50

Síntesis de 5-tiomorfolinopiridina-2-amina, Compuesto 33

[0223]

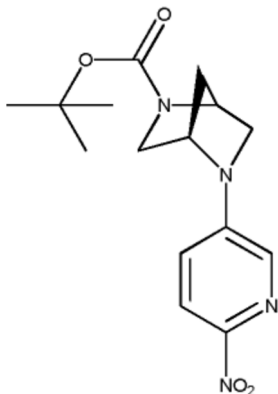
55



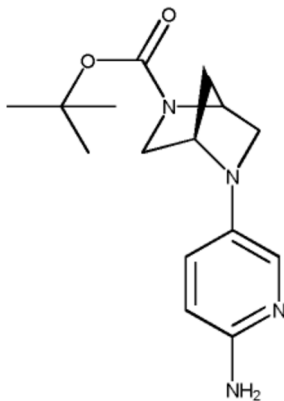
60

65 **[0224]** 5-tiomorfolinopiridina-2-amina se preparó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,59 - 2,73 (m, 4 H) 3,04 - 3,20 (m, 4 H) 5,41 (s, 2 H) 6,35 (d, *J* = 8,78 Hz, 1 H) 7,10 (dd, *J* = 8,78, 2,93 Hz, 1 H) 7,57 (d, *J* = 2,64 Hz, 1 H). LCMS (ESI) 196 (M + H).

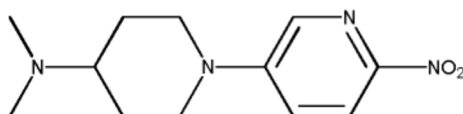
Ejemplo 34

Síntesis de *tert*-butilo (4R)-5-(6-nitro-3-piridilo)-2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptano-2-carboxilato, Compuesto 34**[0225]**

[0226] Se sintetizó *tert*-butilo (4R)-5-(6-nitro-3-piridilo)-2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptano-2-carboxilato de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO d_6) δ ppm 1,33 (d, $J = 32,21$ Hz, 11 H) 1,91 (m, 2 H) 3,15 (d, $J = 10,25$ Hz, 1 H) 3,58 (m, 1 H) 4,46 (m, 1 H) 4,83 (s, 1 H) 7,16 (s, 1 H) 7,94 (s, 1 H) 8,05 - 8,16 (m, 1 H).

Ejemplo 35**Síntesis de *tert*-butilo (4R)-5-(6-amino-3-piridilo)-2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptano-2-carboxilato, Compuesto 35****[0227]**

[0228] *tert*-butilo El (4R)-5-(6-amino-3-piridilo)-2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptano-2-carboxilato se preparó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,31 (d, $J = 31,91$ Hz, 11 H) 1,83 (m, 2 H) 2,71 - 2,82 (m, 1 H) 3,44 (m, 1 H) 4,30 (d, 2H) 5,08 (s, 2 H) 6,35 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 6,77 - 6,91 (m, 1 H) 7,33 (s, 1 H). LCMS (ESI) 291 (M + H).

Ejemplo 36**Síntesis de *N,N*-dimetilo-1-(6-nitro-3-piridilo)piperidina-4-amina, Compuesto 36****[0229]**

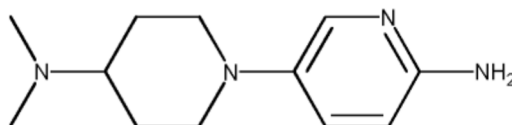
[0230] *N,N*-dimetilo-1-(6-nitro-3-se sintetizó piridilo)piperidina-4-amina de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,30 -1,45 (m, 2 H) 1,79

(m, 2 H) 2,14 (s, 6 H) 2,33 (m, 1 H) 2,92 - 3,04 (m, 2 H) 4,03 (d, $J = 13,76$ Hz, 2 H) 7,42 (dd, $J = 9,22, 3,07$ Hz, 1 H) 8,04 - 8,11 (m, 1 H) 8,21 (d, $J = 2,93$ Hz, 1 H).

Ejemplo 37

Síntesis de 5-[4-(dimetilamino)-1-piperidilo]piridina-2-amina, compuesto 37

[0231]

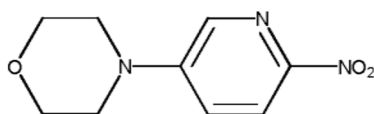


[0232] 5-[4-(dimetilamino)-1-piperidilo]piridina-2-amina fue preparado de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,35 -1,50 (m, 2 H) 1,69 -1,81 (m, 2 H) 2,00 - 2,10 (m, 1 H) 2,11 - 2,22 (s, 6 H) 3,17 - 3,36 (m, 4 H) 5,19 - 5,38 (s, 2 H) 6,34 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,10 (dd, $J = 8,78, 2,93$ Hz, 1 H) 7,55 (d, $J = 2,63$ Hz, 1 H). LCMS (ESI) 221 (M + H).

Ejemplo 38

Síntesis de 4-(6-nitro-3-piridilo)morfolina, Compuesto 38

[0233]

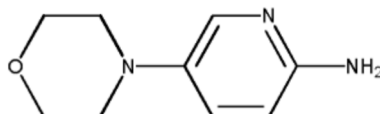


[0234] 4-(6-nitro-3-piridilo)morfolina se sintetizó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina.

Ejemplo 39

Síntesis de 5-morfolinopiridina-2-amina, Compuesto 39

[0235]

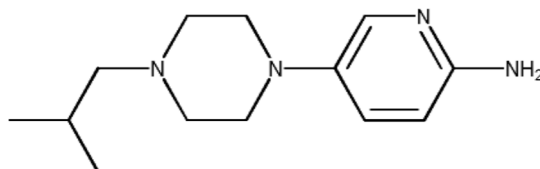


[0236] 5-morfolinopiridina-2-amina se preparó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 2,91 - 3,00 (m, 4 H) 3,76 - 3,84 (m, 4 H)₄,19 (br. S., 2 H) 6,45 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,12 (dd, $J = 8,78, 2,93$ Hz, 1 H) 7,72 (d, $J = 2,93$ Hz, 1 H).

Ejemplo 40

Síntesis de 5-(4-isobutylpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina, Compuesto 40

[0237]

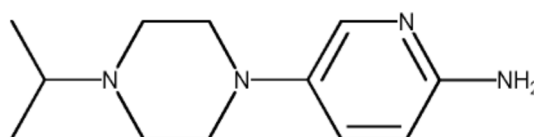


[0238] 1-isobutilo-4-(6-nitro-3-piridilo)piperazina se sintetizó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina que luego se convirtió en 5-(4-isobutylpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina de manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,88 (d, $J = 6,73$ Hz, 6 H) 1,71 - 1,84 (m, 1 H) 2,10 (d, $J = 7,32$ Hz, 2 H) 2,46 - 2,58 (m, 4 H) 2,97 - 3,07 (m, 4 H)_{4,12} (s, 2 H) 6,45 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,14 (dd, $J = 8,78, 2,93$ Hz, 1 H) 7,75 (d, $J = 2,93$ Hz, 1 H). LCMS (ESI) 235 (M + H).

Ejemplo 41

Síntesis de 5-(4-isopropilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina, Compuesto 41

[0239]

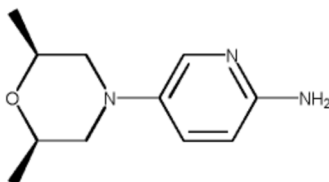


[0240] 1-isopropilo-4-(6-nitro-3-piridilo)piperazina se sintetizó de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina que luego se convirtió en 5-(4-isopropilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina en de manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1,06 (d, $J = 6,44$ Hz, 6 H) 2,59 - 2,75 (m, 5 H) 2,97 - 3,10 (m, 4 H)_{4,13} (s, 2 H) 6,45 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,15 (dd, $J = 9,08, 2,93$ Hz, 1 H) 7,76 (d, $J = 2,93$ Hz, 1 H). LCMS (ESI) 221 (M + H).

Ejemplo 42

Síntesis de 5-[(2R, 6S)-2,6-dimetilmorfolina-4-ilo]piridina-2-amina, Compuesto 42

[0241]

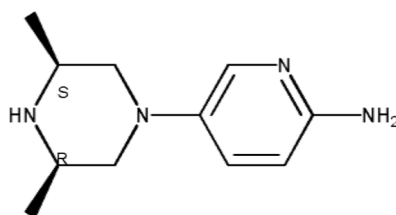


[0242] (2S, 6R)-2,6-dimetilo-4-(6-nitro-3-piridilo)morfolina se sintetizó de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina que luego se convirtió en 5-[(2R, 6S)-2,6-dimetilmorfolina-4-ilo]piridina-2-amina de manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1,20 (d, $J = 6,44$ Hz, 6 H) 2,27 - 2,39 (m, 2 H) 3,11 - 3,21 (m, 2 H) 3,70 - 3,84 (m, 2 H) 4,15 (s, 2 H) 6,45 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H) 7,12 (dd, $J = 8,78, 2,93$ Hz, 1 H) 7,72 (d, $J = 2,63$ Hz, 1 H). LCMS (ESI) 208 (M + H).

Ejemplo 43

Síntesis de 5-[(3R, 5S)-3,5-dimetilpiperazina-1-ilo]piridina-2-amina, Compuesto 43

[0243]



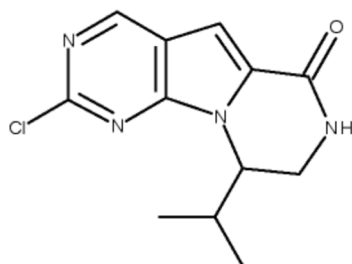
[0244] Se sintetizó (3S, 5R)-3,5-dimetilo-1-(6-nitro-3-piridilo)piperazina de manera similar a la utilizada en la síntesis de 2-nitro-5-[4-(1-piperidilo)-1-piperidilo]piridina que luego se convirtió en 5-[(3R, 5S)-3,5-dimetilpiperazina-1-ilo]piridina-2-amina de una manera similar a la utilizada en la síntesis de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina.

^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 1,09 (d, J = 6,44 Hz, 6 H) 2,20 (t, J = 10,83 Hz, 2 H) 2,95 - 3,08 (m, 2 H) 3,23 (dd, J = 11,71,2,05 Hz, 2 H) 4,13 (s, 2 H) 6,45 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 7,14 (dd, J = 8,78, 2,93 Hz, 1 H) 7,73 (d, J = 2,63 Hz, 1 H). LCMS (ESI) 207 (M + H).

5 Ejemplo 44

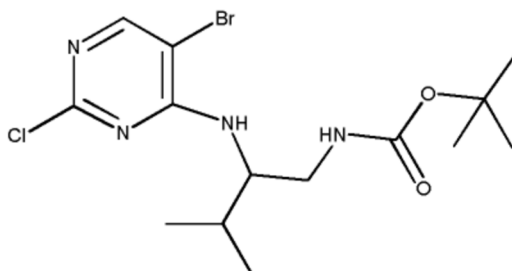
Síntesis del Compuesto 44

[0245]



tert-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato

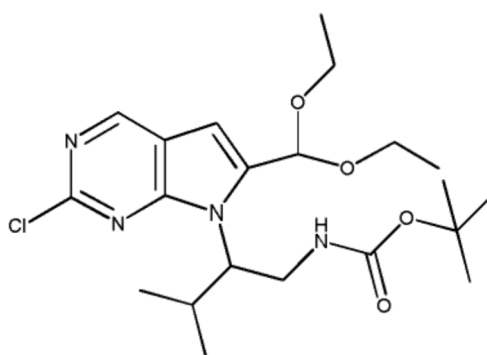
[0246]



[0247] A La solución del intermedio A en etanol (100 ml) se hidrógeno bajo 30 psi de hidrógeno usando Pd/C al 10% (0,7 g) en una bomba de presión durante 7 horas. Después de la filtración de la mezcla de reacción a través de CELITETM, la capa orgánica se concentró a vacío para proporcionar *tert*-butilo N-(2-amino-3-metilo-butilo)carbamato (3,8 g).

[0248] A una solución de 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina (7,11 g, 0,0312 moles) en etanol (100 ml) se le añadió diisopropiletilamina (5,45 ml, 1,0 eq) y *tert*-butilo N-(2-amino-3-metilbutil)carbamato (6,31 g, 0,0312 moles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Después de la concentración al vacío, se añadieron acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-30%) para proporcionar *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,77 - 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 3 H) 0,87 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 1,31 -1,39 (m, 9 H) 1,82 -1,93 (m, 1 H) 2,94 (d, J = 5,56 Hz, 1 H) 3,08 - 3,22 (m, 2 H) 3,98 (d, J = 8,20 Hz, 1 H) 6,96 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 8,21 (s, 1 H). LCMS (ESI) 393 (M + H). *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]-3-metilo-butilo]carbamato

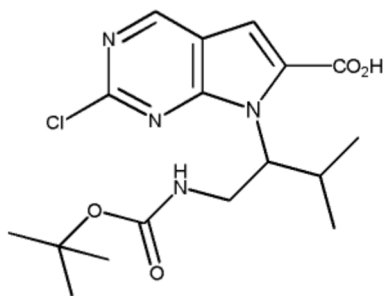
[0249]



[0250] *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]-3-metilbutilo] el carbamato se sintetizó alojando carbamato de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo] en condiciones de Sonogoshira como se describe para el *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato seguido de un tratamiento posterior con TBAF como se describe en la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,11 (d, *J* = 6,44 Hz, 3 H) 1,18 (t, *J* = 7,03 Hz, 6 H) 1,21 -1,26 (m, 12 H) 2,88 (br. s., 1 H) 3,43 - 3,78 (m, 6 H) 3,97 - 4,08 (m, 1 H) 5,61 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,71 - 6,78 (m, 1 H) 8,87 (s, 1 H). LCMS (ESI)₄₄₁ (M + H).

7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato

[0251]



[0252] A una solución *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato en THF se añadió TBAF y el contenido se calentó a reflujo durante 3 h. Luego se añadieron acetato de etilo y agua y la capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío. A esta reacción cruda se le añadió ácido acético/agua (9: 1) y los contenidos se agitaron durante 12 h a temperatura ambiente. Después de concentrar a vacío, NaHCO₃ sat se añadieron y acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó y luego se concentró al vacío. El producto de reacción bruto así obtenido se disolvió en DMF, luego se añadió oxona y los contenidos se agitaron durante 3 h. Después de la adición de acetato de etilo, la mezcla de reacción se filtró a través de CELITE™ y se concentró al vacío. La cromatografía en columna del producto bruto sobre gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-100%) proporcionó 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d] pirimidina-6-ácido carboxílico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,85 (d, *J* = 7,03 Hz, 3 H) 0,97 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 1,52 (s, 9 H) 1,99 - 2,23 (m, 1 H) 3,98 (dd, *J* = 14,05, 3,51 Hz, 1 H) 4,47 - 4,71 (m, 2 H) 7,47 (s, 1 H) 9,17 (s, 1 H). LCMS (ESI) 383 (M + H).

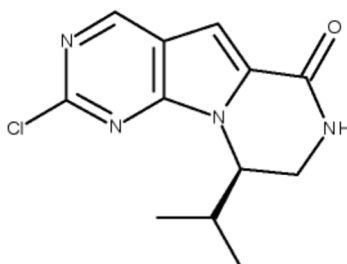
Compuesto 44

[0253] A 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico (0,050 g, 0,00013 mol) en DCM (1,5 ml) se añadió DIC (32,7 mg) y DMAP (10 mg). Los contenidos se agitaron durante 2 h. Luego se añadió ácido trifluoroacético (0,4 ml) y la agitación continuó durante 30 minutos adicionales. Después de la adición de solución saturada de NaHCO₃ para neutralizar el exceso de ácido, acetato de etilo se añadió y la capa orgánica se separó, se secó usando sulfato de magnesio y luego concentrado al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-100%) para proporcionar el producto. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,72 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 0,97 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 2,09 - 2,22 (m, 1 H) 3,57 (dd, *J* = 13,18, 4,98 Hz, 1 H) 3,72 (dd, *J* = 13,61, 4,25 Hz, 1 H) 4,53 (dd, *J* = 8,05, 3,95 Hz, 1 H) 7,20 (s, 1 H) 8,34 (d, *J* = 4,98 Hz, 1 H) 9,08 (s, 1 H). LCMS (ESI) 265 (M + H).

Ejemplo 45

Síntesis del Compuesto 45

[0254]

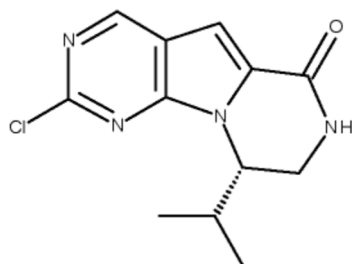


[0255] El Compuesto 14 se hidrogenó con 10% de Pd/C para proporcionar el carbamato de *tert*-butilo N-[(2R)-2-amino-3-metilbutilo]carbamato, que luego se trató con 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para el Compuesto 44 para proporcionar el Compuesto 45. Los datos analíticos son consistentes con los informados para el racemato (Intermedio 1A).

Ejemplo 46

Síntesis del Compuesto 46

[0256]

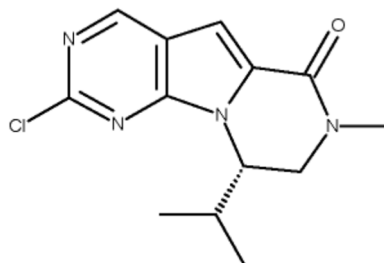


[0257] El Compuesto 15 se hidrogenó con 10% de Pd/C para proporcionar el carbamato de *tert*-butilo N-[(2S)-2-amino-3-metilbutilo]carbamato, que luego se trató con 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para el Compuesto 44 para proporcionar el Compuesto 46. Los datos analíticos (RMN y LCMS) fueron consistentes con los reportados para el Compuesto 44 de racemato.

Ejemplo 47

Síntesis del Compuesto 47

[0258]

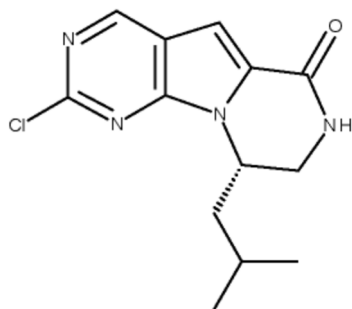


[0259] A una solución de Compuesto 44 (80 mg, 0,00030 moles) en DMF (3 ml) se añadió una dispersión al 60% de hidruro de sodio en aceite (40 mg). Después de agitar durante 15 minutos, se añadió yoduro de metilo (37 ml, 2 equiv.). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. saturada de NaHCO₃ se añadió entonces seguido por acetato de etilo. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar el producto. ¹H RMN (600 MHz, DMSO d₆) δ ppm 0,74 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 0,91 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 2,04 - 2,20 (m, 1 H) 3,04 (s, 3 H) 3,69 (dd, *J* = 13,76, 1,17 Hz, 1 H) 3,96 (dd, *J* = 13,76, 4,68 Hz, 1 H) 4,58 (dd, *J* = 7,32, 3,51 Hz, 1 H) 7,16 (s, 1 H) 9,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 279 (M + H).

Ejemplo 48

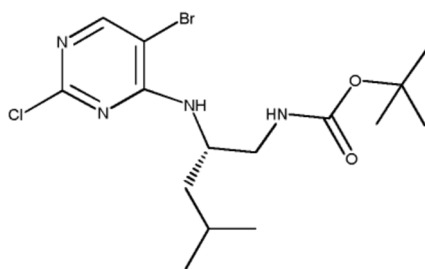
Síntesis del Compuesto 48

[0260]

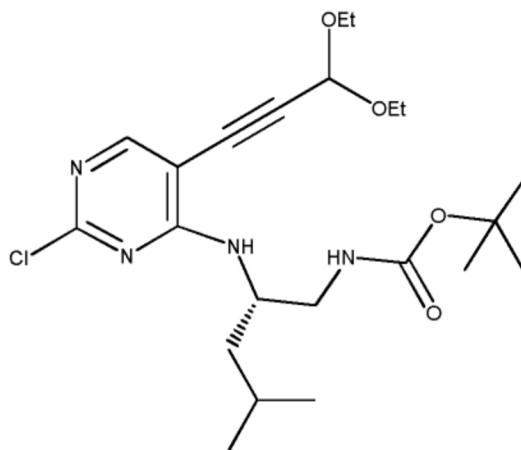


tert-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-4-metilo-pentilo]carbamato

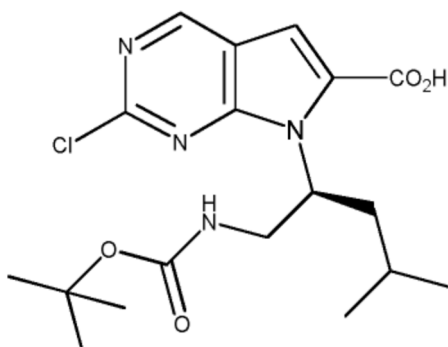
[0261]



[0262] El Compuesto 18 se hidrogenó con 10% de Pd/C en etanol bajo una capa de hidrógeno a 50 psi en una bomba de presión para proporcionar *tert*-butilo N-[(2S)-2-amino-4-metilo-pentilo]carbamato que luego reaccionó con 5-bromo-2,4-dicloropirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para el *tert*-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilbutilo]carbamato para proporcionar *tert*-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-4-metilo-pentilo]carbamato. ¹H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,91 (d, *J* = 6,44 Hz, 3 H) 0,94 (d, *J* = 6,44 Hz, 3 H) 1,32 -1,51 (m, 11 H) 1,55 -1,67 (m, 1 H) 3,28 (t, *J* = 5,86 Hz, 2 H) 4,21 - 4,42 (m, 1 H) 4,84 (s, 1 H) 5,84 (d, *J* = 7,32 Hz, 1 H) 8,07 (s, 1 H) LCMS (ESI) 407 (M + H).



[0263] A una solución de *tert*-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-4-metilo-pentilo]carbamato (5,0 g, 12,3 mmoles) en tolueno (36 mL) y se añadió trietilamina (7,2 mL) bajo nitrógeno, 3,3-diethoxiprop-1-yne (2,8 mL, 19,7 mmoles), Pd₂(dba)₃ (1,1 g, 1,23 mmoles) y trifenilsina (3,8 g, 12,3 mmoles). El contenido se calentó a 70 grados durante 24 h. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de CELITE™ y luego se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-30%) para proporcionar (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-diethoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. LCMS (ESI) 455 (M + H).



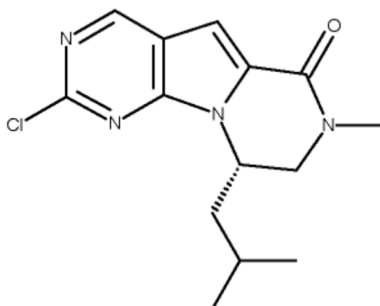
[0264] El 7-[(1S)-1-[(*tert*-butoxycarbonylamino)metilo]-3-metilo-butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando el secuencia sintética análoga a la descrita para el 7-[1-[(*tert*-butoxycarbonylamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,88 (d, $J = 6,44$ Hz, 3 H) 0,97 (d, $J = 6,44$ Hz, 3 H) 1,47 (s, 9 H) 1,49-1,54 (m, 1 H) 1,56 (t, $J = 7,17$ Hz, 2 H) 3,98 (dd, $J = 13,91, 3,07$ Hz, 1 H) 3,76 (dd, $J = 13,31, 4,13$ Hz, 1 H) 4,38 (d, $J = 14,05$ Hz, 1 H) 4,90 (t, $J = 7,17$ Hz, 1 H) 7,41 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H). LCMS (M + H) 397.

[0265] El Compuesto 48 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga como la descrita para el Compuesto 44. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,82 (d, $J = 6,73$ Hz, 3 H) 0,97 (d, $J = 6,44$ Hz, 3 H) 1,34-1,46 (m, 1 H) 1,48-1,65 (m, 2 H) 3,40 (dd, $J = 13,32, 5,42$ Hz, 1 H) 3,76 (dd, $J = 13,47, 4,10$ Hz, 1 H) 4,76-4,92 (m, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 8,34 (d, $J = 5,27$ Hz, 1 H) 9,04 (s, 1 H). LCMS (ESI) 279 (M + H).

Ejemplo 49

Síntesis del Compuesto 49

[0266]

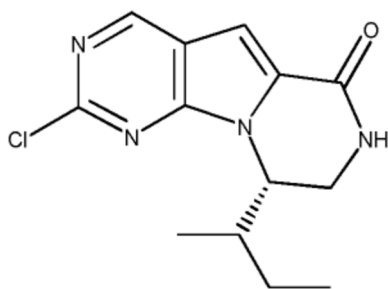


[0267] El Compuesto 49 se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Compuesto 47. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,82 (d, $J = 6,44$ Hz, 3 H) 0,97 (d, $J = 6,44$ Hz, 3 H) 1,37-1,68 (m, 3 H) 3,04 (s, 3 H) 3,56 (d, $J = 13,47$ Hz, 1 H) 4,00 (dd, $J = 13,32, 4,25$ Hz, 1 H) 4,82-4,94 (m, 1 H) 7,16 (s, 1 H) 9,03 (s, 1 H). LCMS (ESI) 293 (M + H).

Ejemplo 50

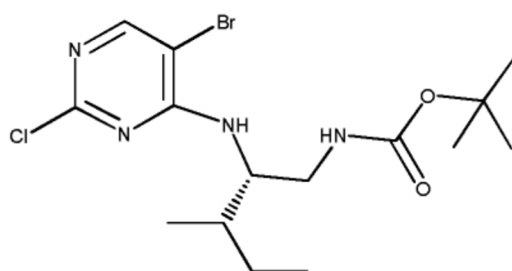
Síntesis del Compuesto 50

[0268]



tert-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-pentilo]carbamato

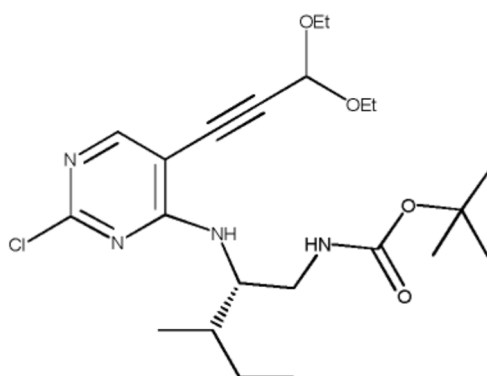
[0269]



[0270] El Compuesto 20 se hidrogenó usando Pd/C al 10% bajo hidrógeno a 50 psi en un recipiente a presión para proporcionar N-[(2S)-2-amino-3-metilo-pentilo]carbamato de *tert*-butilo que se hizo reaccionar con 5- bromo-2,4- dicloro-pirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro- pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato para proporcionar N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4- ilo)amino]-3-metilo-pentilo]carbamato de *tert*-butilo. ¹H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,88 - 0,95 (m, 6 H) 1,11 -1,20 (m, 1 H) 1,34 (s, 9 H) 1,44 -1,54 (m, 1 H) 1,64 -1,72 (m, 1 H) 3,17 - 3,27 (m, 1 H) 3,33 - 3,43 (m, 1 H) 4,11 - 4,21 (m, 1 H) 4,81 (s, 1 H) 5,92 (d, *J* = 8,20 Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 407.

tert-butilo N-[(2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-3-metilpentilo]carbamato

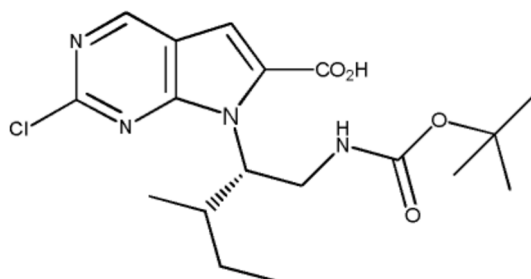
[0271]



[0272] *tert*-butilo N-[(2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop)-1-inilo]pirimidina-4-ilo]amino]-3-metilo-pentilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3- dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilpentano-1,2-diamina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,76 - 0,89 (m, 6 H) 1,03 (q, *J* = 7,22 Hz, 3 H) 1,10 -1,17 (m, 3 H) 1,25 -1,42 (m, 11 H) 1,59 -1,73 (m, 1 H) 3,35 - 3,47 (m, 4 H) 3,51 - 3,73 (m, 2 H) 3,99 - 4,11 (m, 1 H) 5,52 - 5,56 (m, 1 H) 6,76 - 7,03 (m, 2 H) 8,12 - 8,23 (m, 1 H). LCMS (ESI) 455 (M + H).

7-[(1S)-1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-butilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0273]



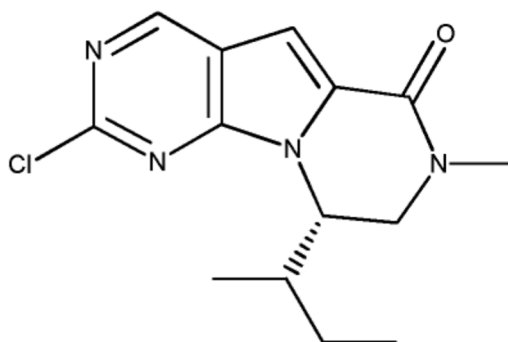
[0274] 7-[(1S)-1-[(*tert*-butoxycarbonilamino)metilo]-2-metilo-butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando la secuencia sintética análoga como el descrito para el ácido 7-[1-[(*tert*-butoxycarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,80 (t, $J = 7,47$ Hz, 3 H) 0,86 (d, $J = 7,03$ Hz, 3 H) 1,06 -1,30 (m, 2 H) 1,48 (s, 9 H) 1,79 -1,96 (m, 1 H) 3,95 (dd, $J = 14,05$, 3,22 Hz, 1 H) 4,52 (d, $J = 14,35$ Hz, 1 H) 4,61 - 4,73 (m, 1 H) 7,43 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H). LCMS (ESI) 397 (M + H).

[0275] El Compuesto 50 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,74 (t, $J = 7,32$ Hz, 3 H) 0,89 (d, $J = 6,73$ Hz, 3 H) 1,00 -1,12 (m, 2 H) 1,82 -1,94 (m, 1 H) 3,55 (dd, $J = 13,91$, 4,83 Hz, 1 H) 3,70 (dd, $J = 13,61$, 4,25 Hz, 1 H) 4,57 (dd, $J = 7,91$, 4,10 Hz, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 8,31 (d, $J = 5,27$ Hz, 1 H) 9,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 279 (M + H).

Ejemplo 51

Síntesis del Compuesto 51

[0276]

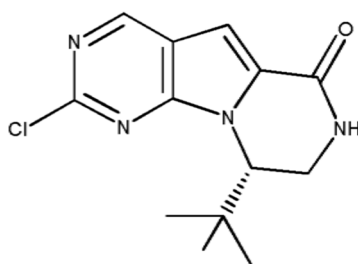


[0277] El Compuesto 51 se sintetizó de manera similar al Compuesto 47. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,77 (t, $J = 7,47$ Hz, 3 H) 0,84 (d, $J = 6,73$ Hz, 3 H) 1,07 -1,16 (m, 2 H) 1,82 -1,95 (m, 1 H) 3,03 (s, 3 H) 3,68 (d, $J = 13,76$ Hz, 1 H) 3,96 (dd, $J = 13,76$, 4,39 Hz, 1 H) 4,59 - 4,70 (m, 1 H) 7,16 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H) LCMS (ESI) 293 (M + H).

Ejemplo 52

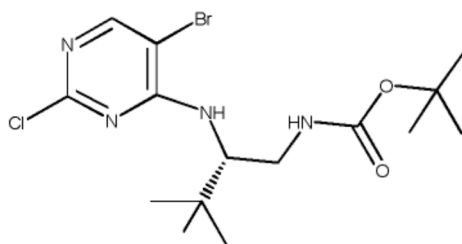
Síntesis del Compuesto 52

[0278]



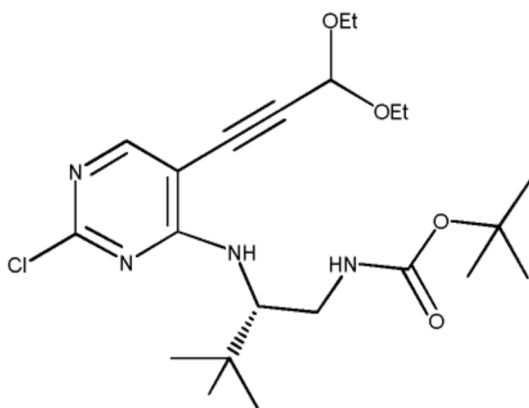
tert-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3,3-dimetilo-butilo]carbamato

[0279]



[0280] El Compuesto 21 se hidrogenó usando Pd al 10%/C bajo hidrógeno a 50 psi en un recipiente a presión para proporcionar *tert*-butilo N-[(2S)-2-amino-3,3-dimetilo-butilo]carbamato de que era luego reaccionó con 5-bromo-2,4-dicloropirimidina usando condiciones de reacción análogas como se describe usando condiciones de reacción análogas como se describe para *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato para proporcionar *tert*-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3,3-dimetilo-butilo]carbamato. LCMS (ESI) 407 (M + H). *tert*-butilo N-[(2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-3,3-dimetilbutilo]carbamato.

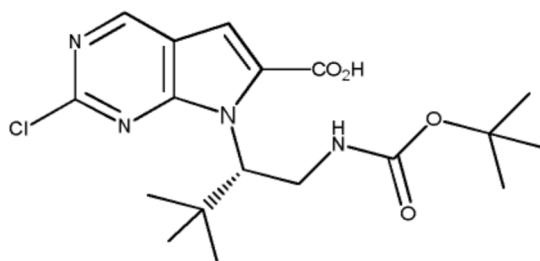
[0281]



[0282] *tert*-butilo N-[(2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-3,3-dimetilo-butilo]carbamato se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilpentano-1,2-diamina. LCMS (ESI) 455 (M + H).

7-[(1S)-1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2,2-dimetilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0283]

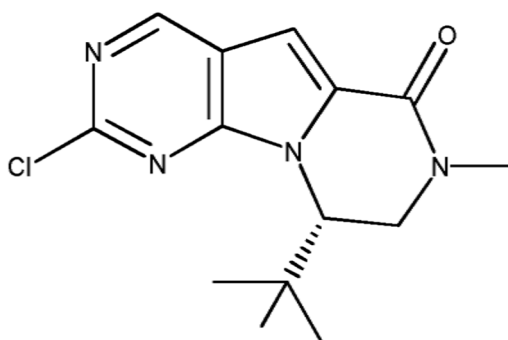


[0284] 7-[(1S)-1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2,2-dimetilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando la secuencia sintética análoga a la descrita para el 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 397 (M + H). El intermedio 1F se sintetizó usando una secuencia sintética análoga como la descrita para el intermedio 1A. LCMS (ESI) 279 (M + H).

Ejemplo 53

Síntesis del Compuesto 53

[0285]

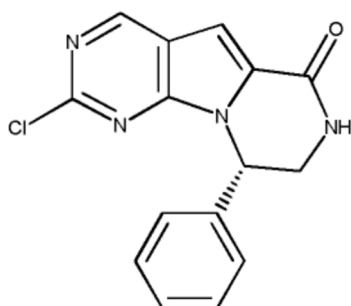


[0286] El Compuesto 53 se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Intermedio 1CA. LCMS (ESI) 293 (M + H).

Ejemplo 54

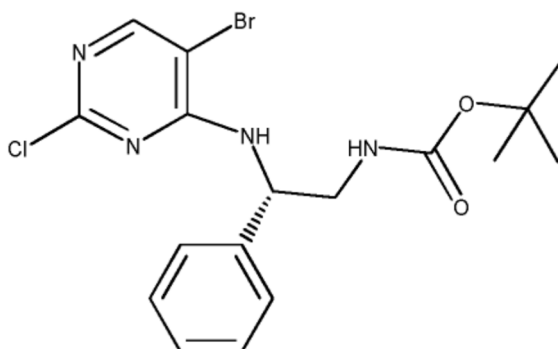
Síntesis del Compuesto 54

[0287]



tert-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-fenilo-etilo]carbamato

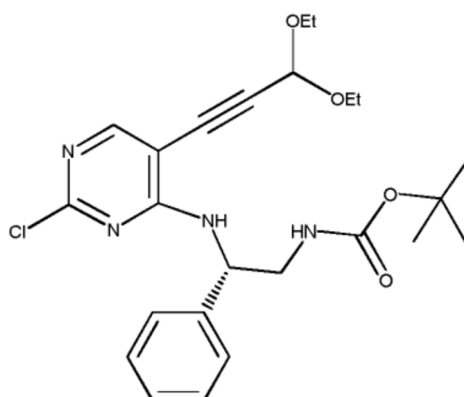
[0288]



[0289] El Compuesto 21 se hidrogenó utilizando Pd/C al 10% bajo hidrógeno a 50 psi en un recipiente a presión para proporcionar N-[(2S)-2-amino-2-fenilo-etilo]carbamato de *terc*-butilo que luego se hizo reaccionar con 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para el *terc*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloropirimidina-4-ilo)amino]-3-metilbutilo]carbamato para proporcionar *terc*-butilo N-[(2S)-2-[(5-bromo-2-cloropirimidina-4-ilo)amino]-2-fenilo-etilo]carbamato. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,32 (s, 9 H) 3,29 - 3,50 (m, 2 H) 5,12 - 5,24 (m, 1 H) 7,10 (t, J = 5,27 Hz, 1 H) 7,21 (t, J = 6,88 Hz, 1 H) 7,26 - 7,34 (m, 4 H) 7,89 (d, J = 7,32 Hz, 1 H) 8,24 (s, 1 H). LCMS (ESI) 427 (M + H).

terc-butilo N-[*(2S)*-2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-fenilo-etilo]carbamato

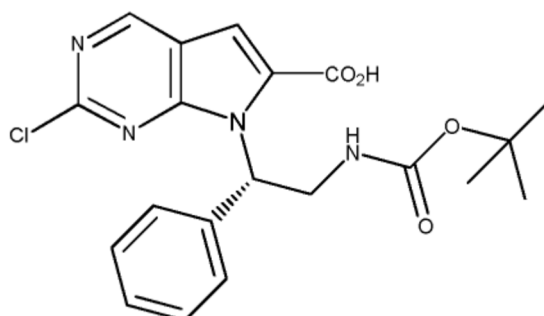
[0290]



[0291] *tert*-butilo N-[(2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-fenilo-etilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilpentano-1,2-diamina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,14 (t, $J = 7,03$ Hz, 6 H) 1,32 (s, 9 H) 3,39 (s, 2 H) 3,52 - 3,61 (m, 2 H) 3,64 - 3,73 (m, 2 H) 5,17 - 5,26 (m, 1 H) 5,57 (s, 1 H) 7,07 - 7,14 (m, 1 H) 7,20 - 7,25 (m, 1 H) 7,26 - 7,33 (m, 4 H) 7,90 (d, $J = 7,61$ Hz, 1 H) 8,19 (s, 1 H). LCMS (ESI) 475 (M + H).

7-[(1S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1-fenilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0292]



[0293] 7-[(1S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1-fenilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando la secuencia sintética análoga como la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 417 (M + H).

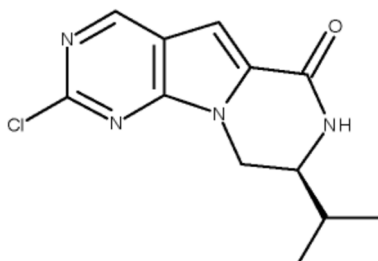
Compuesto 54

[0294] El Compuesto 54 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,58 - 3,69 (m, 1 H) 4,13 (dd, $J = 13,47, 4,39$ Hz, 1 H) 6,07 (d, $J = 3,81$ Hz, 1 H) 6,85 (d, $J = 7,32$ Hz, 2 H) 7,19 - 7,31 (m, 3 H) 7,34 (s, 1 H) 8,27 (d, $J = 5,27$ Hz, 1 H) 9,13 (s, 1 H). LCMS (ESI) 299 (M + H).

Ejemplo 55

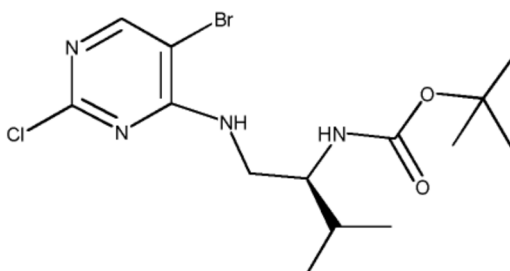
Síntesis del Compuesto 55

[0295]



tert-butilo N-[(1S)-1-[[[(5-bromo-2-cloro-pirimidina)-4-ilo]amino]metilo]-2-metilo-propilo]carbamato

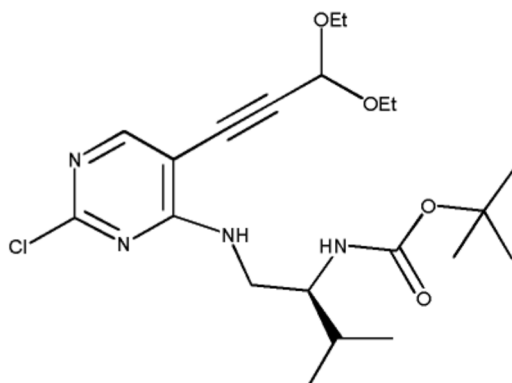
[0296]



[0297] *tert*-butilo N-[(1S)-1-[[[(5-bromo-2-cloro-pirimidina)-4-ilo]amino]metilo]-2-metilpropilo]carbamato se sintetizó usando 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina e Intermedio E usando condiciones de reacción análogas a las descritas para *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO *d*) δ ppm 0,95 -1,02 (m, 6 H) 1,35 -1,45 (m, 9 H) 1,75 -1,90 (m, 1 H) 3,35 - 3,48 (m, 1 H) 3,52 - 3,61 (m, 1 H) 3,64 - 3,76 (m, 1 H) 4,56 (d, J = 8,49 Hz, 1 H) 6,47 (s, 1 H) 8,07 (s, 1 H). LCMS (ESI) 393 (M + H).

tert-butilo N-[(1S)-1-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]-2-metilo-propilo]carbamato

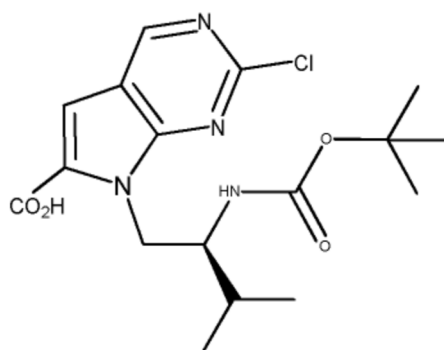
[0298]



[0299] *tert*-butilo N-[(1S)-1-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]-2-metilo-propilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3 -dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,90 -1,00 (m, 6 H) 1,18 -1,25 (m, 6 H) 1,34 -1,36 (m, 9 H) 1,69 -1,90 (m, 1 H) 3,34 - 3,82 (m, 6 H) 4,53 - 4,77 (m, 1 H) 5,45 - 5,55 (m, 1 H) 6,37 (dd, J = 15,37, 6,59 Hz, 1 H) 6,56 (s, 1 H) 8,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 441 (M + H).

7-[(2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-metilo-butilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0300]



[0301] 7-[(2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-metilo-butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando la secuencia sintética análoga como la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,90 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 0,96 (d, J = 7,03 Hz, 3 H) 1,55 - 1,66 (m, 10 H) 4,14 (dd, J = 13,61, 3,95 Hz, 1 H) 4,52 - 4,63 (m, 1 H) 4,84 (dd, J = 13,61, 1,32 Hz, 1 H) 7,37 (s, 1 H) 8,95 (s, 1 H). LCMS (ESI) 383 (M + H).

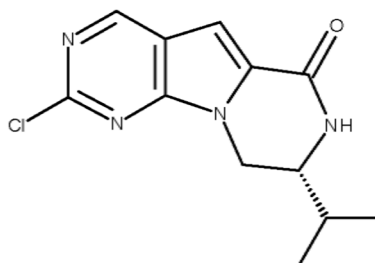
Compuesto 55

[0302] El Compuesto 55 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. LCMS (ESI) 265 (M + H).

Ejemplo 56

Síntesis del Compuesto 56

[0303]

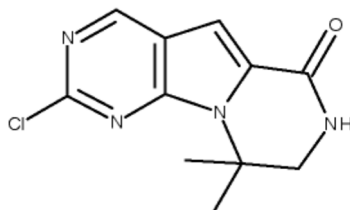


[0304] El Compuesto 56 se sintetizó usando 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina y El Compuesto 17 como materiales de partida, y siguiendo una secuencia similar de etapas sintéticas como para el Compuesto 55. El análisis los datos fueron consistentes con los descritos para su antípoda (Compuesto 55). ^1H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,88 (d, J = 6,44 Hz, 6 H) 1,73 - 1,86 (m, 1 H) 3,67 - 3,76 (m, 2 H) 4,11 - 4,21 (m, 1 H) 7,13 - 7,19 (m, 1 H) 8,56 (s, 1 H) 9,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 265 (M + H).

Ejemplo 57

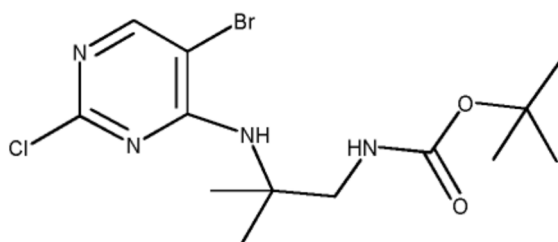
Síntesis del Compuesto 57

[0305]



tert-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilo-propilo]carbamato

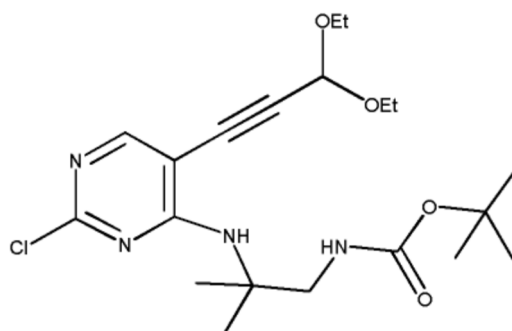
[0306]



[0307] *tert*-butilo *N*-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilo-propilo]carbamato se sintetizó usando 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina y *tert*-butilo *N*-(2-amino-2-metilpropilo)carbamato usando condiciones de reacción análogas como se describe para *tert*-butilo *N*-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. LCMS (ESI) 379 (M + H).

tert-butilo *N*-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato

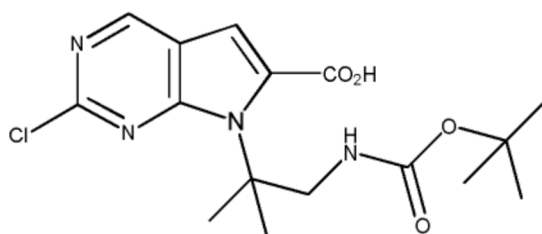
[0308]



[0309] *tert*-butilo *N*-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizado en la síntesis de (2*S*)-*N*2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,11 -1,22 (m, 6 H) 1,31 -1,45 (m, 15 H) 3,10 - 3,24 (m, 2 H) 3,51 - 3,76 (m, 4 H) 5,60 (s, 1 H) 6,94 (s, 1 H) 7,33 (t, *J* = 6,44 Hz, 1 H) 8,18 (s, 1 H). LCMS (ESI) 427 (M + H).

7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,1-dimetilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0310]



[0311] 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,1-dimetilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando la secuencia sintética análoga a la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,43 (s, 9H) 1,73 (s, 6 H) 4,06 (s, 2 H) 7,46 (s, 1 H) 9,23 (s, 1H). LCMS (ESI) 369 (M + H).

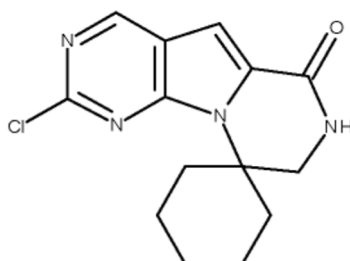
Compuesto 57

[0312] El Compuesto 57 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,73 (s, 6 H) 3,50 (d, *J* = 2,93 Hz, 2 H) 7,25 (s, 1 H) 8,46 - 8,55 (m, 1 H) 9,07 (s, 1 H). LCMS (ESI) 251 (M + H).

Ejemplo 58

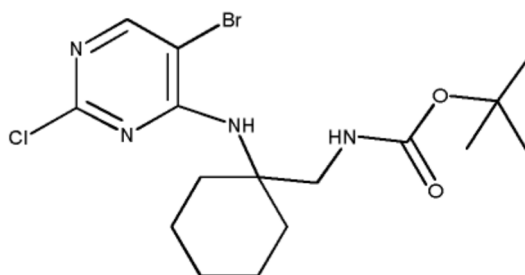
Síntesis del Compuesto 58

[0313]



tert-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino] ciclohexil]metilo]carbamato

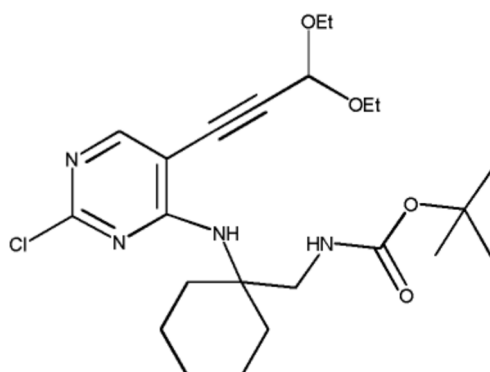
[0314]



[0315] *tert*-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclohexilo]metilo]carbamato se sintetizó usando 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina e intermedio K usando la reacción análoga condiciones descritas para el *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,18 -1,54 (m, 17 H) 2,23 (d, J = 14,35 Hz, 2 H) 3,36 (d, J = 6,44 Hz, 2 H) 5,82 (s, 1 H) 6,93 (s, 1 H) 8,22 (s, 1 H). LCMS (ESI) 419 (M + H).

tert-butilo N-[[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]ciclohexilo]metilo]carbamato

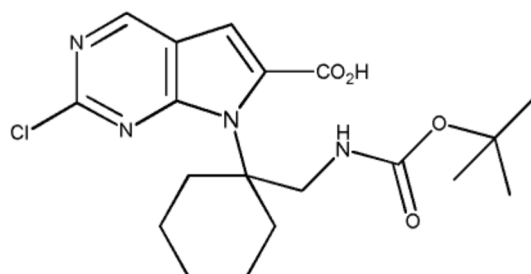
[0316]



[0317] *tert*-butilo N-[[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]ciclohexilo]metilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,08 -1,16 (m, 6 H) 1,17 -1,54 (m, 17 H) 2,13 (br. S., 2 H) 3,36 (d, J = 6,73 Hz, 2 H) 3,50 - 3,69 (m, 4 H) 5,72 (s, 1 H) 6,94 (s, 1 H) 5,72 (br. S., 1H) 8,17 (s, 1 H). LCMS (ESI) 467 (M + H).

7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]ciclohexilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0318]



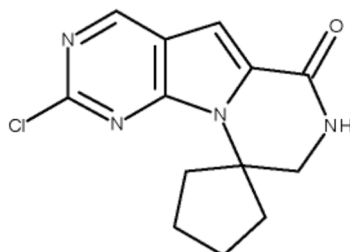
[0319] 7-[1-[(*tert*-butoxycarbonilamino)metil]ciclohexil]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxycarbonilamino)metil]-2-metilpropilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,37 -1,54 (m, 13 H) 1,75 (br. S., 4 H) 2,74 (br. S., 2 H) 3,78 - 3,84 (m, 2 H) 7,44 - 7,51 (m, 1 H) 8,23 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H). LCMS (ESI) 409 (M + H).

Compuesto 58

[0320] El Compuesto 58 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. ^1H RMN (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,28 (br. S., 2 H) 1,42 (br. s., 2 H) 1,70 (br. s., 4 H) 1,85 -1,95 (m, 2 H) 2,69 (m, 2 H) 7,16 - 7,25 (m, 1 H) 8,41 (br. s., 1 H) 9,04 (s, 1 H). LCMS 291 (M + H).

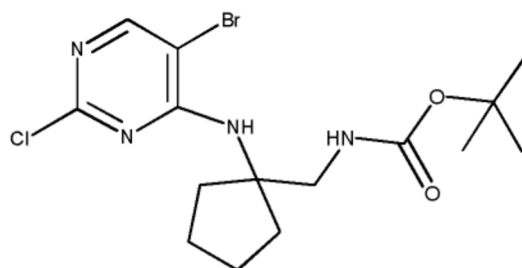
Ejemplo 59**Síntesis del Compuesto 59**

[0321]



tert-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentil]metil]carbamato

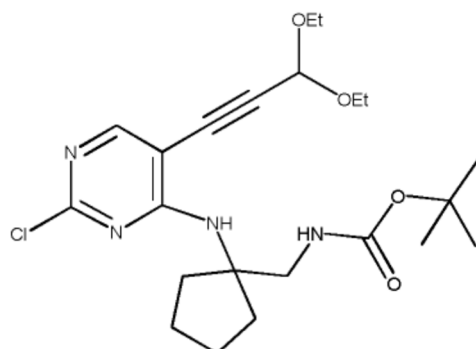
[0322]



[0323] *tert*-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentil]metil]carbamato se sintetizó usando 5 -bromo-2,4-dicloro-pirimidina e intermedio L usando condiciones de reacción análogas a las descritas para el *tert*-butilo N-[[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. ^1H RMN (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,34 (s, 9 H) 1,50 -1,58 (m, 2 H) 1,63 -1,78 (m, 4 H) 1,96 - 2,06 (m, 2 H) 3,25 (d, $J = 6,15$ Hz, 2 H) 6,71 (s, 1 H) 7,18 (t, $J = 6,29$ Hz, 1 H) 8,20 (s, 1 H). LCMS (ESI) 405 (M + H).

tert-butilo N-[[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]ciclopentil]metil]carbamato

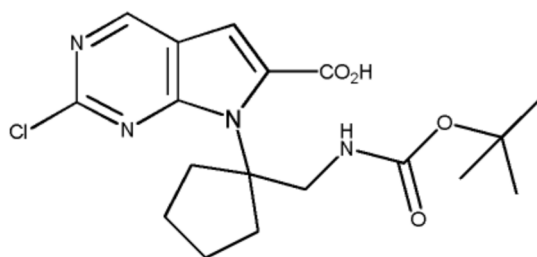
[0324]



[0325] *tert*-butilo N-[[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]ciclopentilo]metilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. LCMS (ESI) 453 (M + H).

7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]ciclopentilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0326]



[0327] 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]ciclopentilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando la secuencia sintética análoga como la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,47 (s, 9 H) 1,74 (br. s., 2 H) 1,88 (br. s., 2 H) 2,04 (br. s., 2 H) 2,41 - 2,45 (m, 2 H) 4,06 (s, 2 H) 7,45 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H). LCMS (ESI) 395 (M + H).

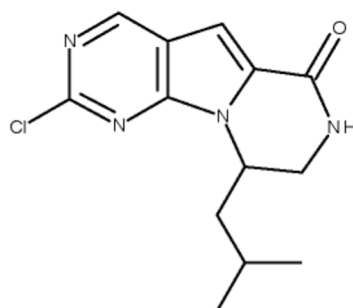
Compuesto 59

[0328] El Compuesto 59 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga como la descrita para el Compuesto 44. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 (br. s., 2 H) 1,86 -1,93 (m, 2 H) 1,99 (d, J = 3,81 Hz, 2 H) 2,40 (br. s., 2 H) 3,48 (d, J = 2,34 Hz, 2 H) 7,22 (s, 1 H) 8,53 (br. s., 1 H) 9,05 (s, 1 H). LCMS (ESI) 277 (M + H).

Ejemplo 60

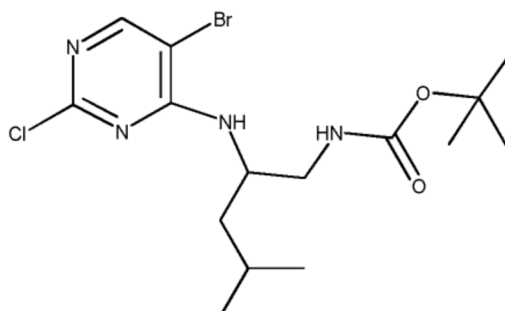
Síntesis del Compuesto 60

[0329]



tert-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-4-metilo-pentilo]carbamato

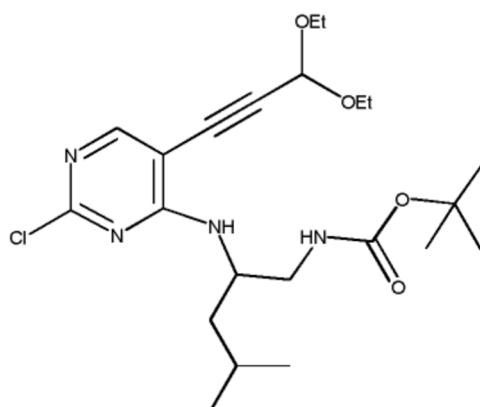
[0330]



[0331] *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-4-metilo-pentilo]carbamato se sintetizó usando 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina e intermedio B utilizando condiciones de reacción análogas a las descritas para el *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. Los datos analíticos son consistentes con los descritos para el enantiómero L.

tert-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]-4-metilo-pentilo]carbamato

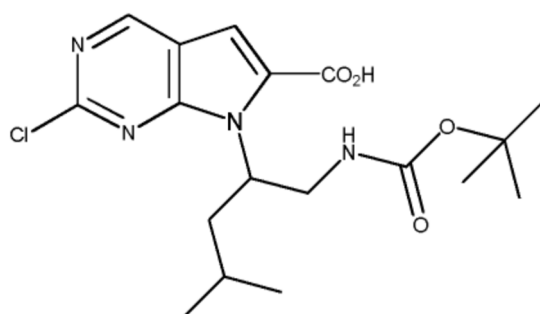
[0332]



[0333] *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]-4-metilpentilo]carbamato se sintetizó utilizando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato. ^1H RMN (600 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1,21 -1,31 (m, 12 H) 1,38 -1,46 (m, 11 H) 1,70 (m, 1H) 3,24 (m, 2 H) 3,65 - 3,82 (m, 4 H)₄,86 (br s., 1H), 5,65 (s, 1 H) 5,85 (br s., 1H) 6,94 (s, 1 H) 8,21 (s, 1 H). LCMS (ESI) 455 (M + H).

7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-3-metilo-butilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0334]



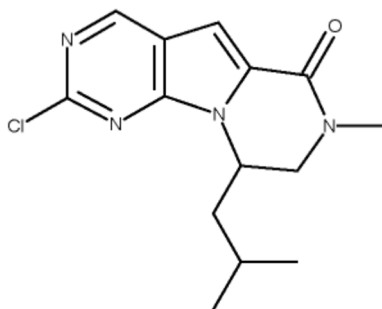
[0335] 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-3-metilo-butilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrol[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico. Los datos analíticos fueron consistentes con los descritos para el isómero L.

Compuesto 60

[0336] El Compuesto 60 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga a la descrita para el Compuesto 44. Los datos analíticos fueron consistentes con los descritos para el isómero L.

Ejemplo 61**Síntesis del Compuesto 61**

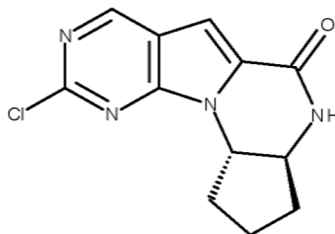
[0337]



[0338] A una solución del Compuesto 60 (100 mg, 0,00024 moles) en DMF (3,0 ml) se añadió hidruro de sodio (60% de dispersión en aceite), (27,6 mg, 3 eq). Después de agitar durante 15 minutos, se añadió yoduro de metilo (30, 2 eq). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de la adición de NaHCO₃ sat, se añadió acetato de etilo. La separación de la capa orgánica seguida de secado con sulfato de magnesio y concentración al vacío proporcionó el producto. Los datos analíticos fueron similares al Compuesto 49.

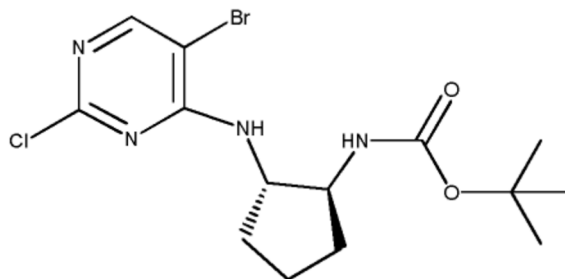
Ejemplo 62**Síntesis del Compuesto 62**

[0339]



tert-butilo N-[(1S, 2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentilo]carbamato

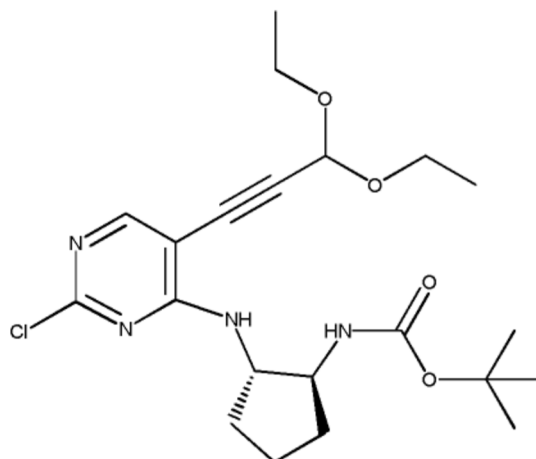
[0340]



[0341] *tert*-butilo N-[(1S, 2S)-2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentilo]carbamato se sintetizó por tratamiento con *tert*-butilo N-[(1S, 2S)-2-aminociclopentilo]carbamato con 5-bromo-2,4-dicloro-pirimidina usando condiciones de reacción análogas a las descritas para *tert*-butilo N-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-3-metilo-butilo]carbamato. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,27 (s, 9H) 1,42 -1,54 (m, 2 H) 1,56 -1,65 (m, 2 H) 1,80 -1,88 (m, 1 H) 1,96 - 2,01 (m, 1 H) 3,88 - 3,96 (m, 1 H) 4,03 - 4,09 (m, 1 H) 6,91 (d, *J* = 8,20 Hz, 1 H) 7,41 (d, *J* = 7,32 Hz, 1 H) 8,18 (s, 1 H). LCMS (ESI) 391 (M + H).

tert-butilo N-[(1S, 2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]ciclopentilo]carbamato

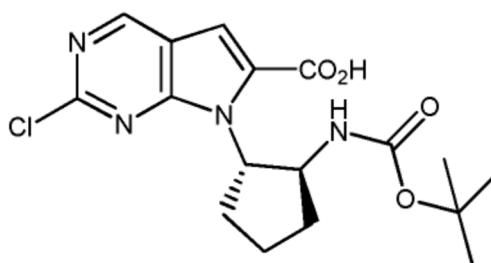
[0342]



[0343] *tert*-butilo N-[(1S, 2S)-2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]ciclopentilo]carbamato se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las utilizadas en la síntesis de (2S)-N2-[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]-4-metilo-pentano-1,2-diamina. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,13 (t, 6 H) 1,28 (s, 9 H) 1,42 -1,52 (m, 2 H) 1,58 -1,65 (m, 2 H) 1,81 -1,90 (m, 1 H) 1,99 - 2,08 (m, 1 H) 3,49 - 3,60 (m, 2 H) 3,63 - 3,71 (m, 2 H) 3,84 - 3,93 (m, 1 H) 3,96 - 4,04 (m, 1 H) 5,53 (s, 1 H) 6,96 (d, *J* = 7,90 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J* = 7,03 Hz, 1 H) 8,14 (s, 1 H). LCMS (ESI) 439 (M + H).

7-[(1S, 2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)ciclopentilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico

[0344]



[0345] 7-[(1S, 2S)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)ciclopentilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando la secuencia sintética análoga a la descrita para 7-[1-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metilo]-2-metilo-propilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,41 -1,52 (m, 9 H) 1,55 -1,68 (m, 1 H) 1,88 - 2,00 (m, 2 H) 2,05 - 2,15 (m, 1 H) 2,26 - 2,35 (m, 1 H) 2,71 - 2,89 (m, 1 H) 4,01 - 4,16 (m, 1 H) 4,28 - 4,45 (m, 1 H) 7,41 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H). LCMS (ESI) 381 (M + H).

Compuesto 62

[0346] El Compuesto 62 se sintetizó usando una secuencia sintética análoga como la descrita para el Compuesto 44. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,48 -1,60 (m, 1 H) 1,88 -1,98 (m, 3 H) 1,99 - 2,08 (m, 1 H) 2,66 - 2,75 (m, 1 H) 3,63 - 3,74 (m, 1 H) 3,99 - 4,12 (m, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 8,89 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H). LCMS (ESI) 263 (M + H).

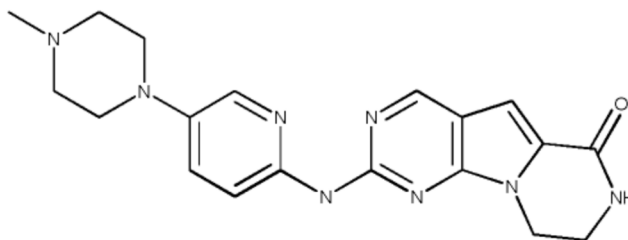
Ejemplo 63

Síntesis del Compuesto 63

[0347]

5

10



15

20

[0348] A cloro triciclactama (0,050 g, 0,225 mmoles) en dioxano (2,0 mL) bajo nitrógeno se añadió 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina (0,052 g, 1,2 eq, 0,270 mmol) seguido de la adición de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (18,5 mg), BINAP (25 mg) y sodio-*terc*-butóxido (31 mg, 0,324 mmoles). El contenido del matraz se desgasifica durante 10 minutos y luego se calienta a 100 grados durante 12 h. La reacción cruda se cargó en una columna de gel de sílice y se eluyó con DCM/MeOH (0-15%) para proporcionar el producto deseado (26 mg). A este compuesto disuelto en DCM/MeOH (10%) se añadió 3N HCl en iso-propanol (2 eq) y la reacción se agitó durante la noche. La concentración al vacío proporcionó la sal clorhidrato. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 11,13 (brs, 1H), 9,07 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,03 (br m 1H), 7,99 (s, 1H), 7,67 (brm, 1H), 7,18 (s, 1H), 4,33 (m, 2H), 3,79 (m, 2H), 3,64 (m, 2H), 3,50 (m, 2H), 3,16 (m, 4H), 2,79 (s, 3H). LCMS (ESI) 379 (M + H).

Ejemplo 64

25

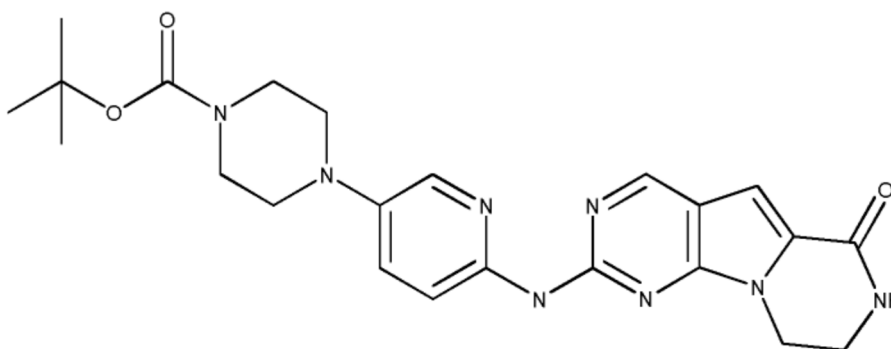
Síntesis del Compuesto 64

30

35

40

[0349]



45

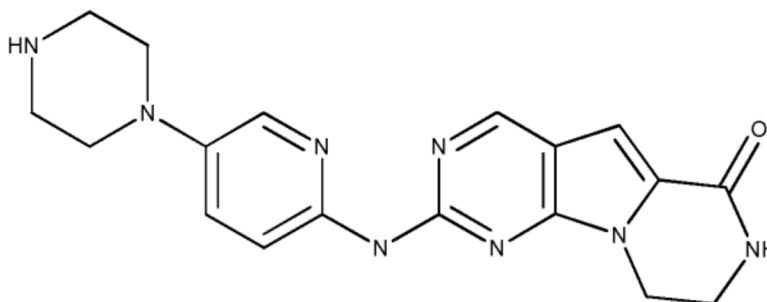
[0350] A cloro triciclactama (0,075 g, 0,338 mmoles) en dioxano (3,5 mL) en nitrógeno se le añadió *terc*-butilo 4-(6-amino-3-piridilo)piperazina-1-carboxilato (0,098 g, 1,05 eq) seguido de la adición de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (27 mg), BINAP (36 mg) y *terc*-butóxido de sodio (45 mg). Los contenidos se calentaron a reflujo durante 11 h. La reacción cruda se cargó en una columna de gel de sílice y se eluyó con DCM/MeOH (0-10%) para proporcionar el producto deseado (32 mg). ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ ppm 9,48 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,98 (s, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,59 (m, 2H), 3,45 (m, 4H), 3,50 (m, 2H), 3,05 (m, 4H). LCMS (ESI) 465 (M + H).

50

Ejemplo 65

Síntesis del Compuesto 65

[0351]

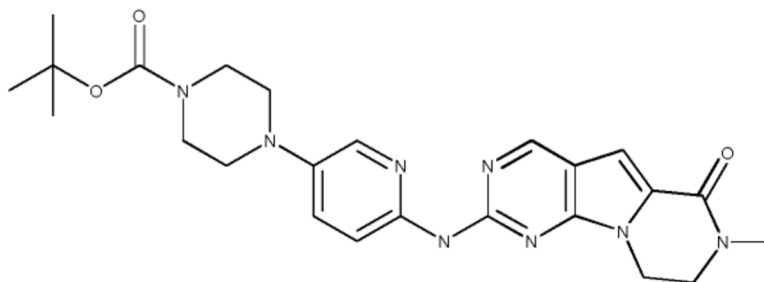


[0352] A una solución del Compuesto 64 (23 mg) en DCM/MeOH al 10% se le añadieron 10 ml de una solución 3M de HCl en isopropanol. Los contenidos se agitaron durante 16 h. La concentración de la mezcla de reacción proporcionó la sal hidrocloreto. ¹H RMN (d6-DMSO) δ ppm 9,01 (s, 1H), 7,94 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 7,23 (s, 1H), 4,30 (m, 2H), 3,64 (m, 2H), 3,36 (m, 4H), 3,25 (m, 4H). LCMS (ESI) 465 (M + H).

Ejemplo 66

Síntesis del Compuesto 66

[0353]

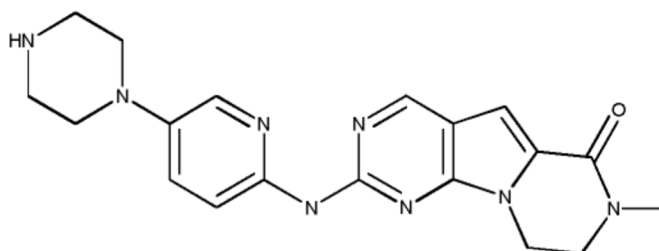


[0354] A amida de cloro-N-metiltríclico (0,080 g, 0,338 mmoles) en dioxano (3,5 ml) en nitrógeno se le añadió *tert*-butilo 4-(6-amino-3-piridilo)piperazina-1-carboxilato 0,102 g (1,1 eq) seguido de la adición de Pd₂(dba)₃ (27 mg), BINAP (36 mg) y *tert*-butóxido de sodio (45 mg). Los contenidos se calentaron a reflujo durante 11 h. El producto bruto se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice con un eluyente de diclorometano/metanol (0-5%) para proporcionar el producto deseado (44 mg). ¹H RMN (d6-DMSO) δ ppm 9,49 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,32 (m, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,44 (m, 1H), 7,00 (s, 1H), 4,33 (m, 2H), 3,80 (m, 2H), 3,48 (m, 4H), 3,07 (m, 4H), 3,05 (s, 3H), 1,42 (s, 9H). LCMS (ESI) 479 (M + H).

Ejemplo 67

Síntesis del Compuesto 67

[0355]

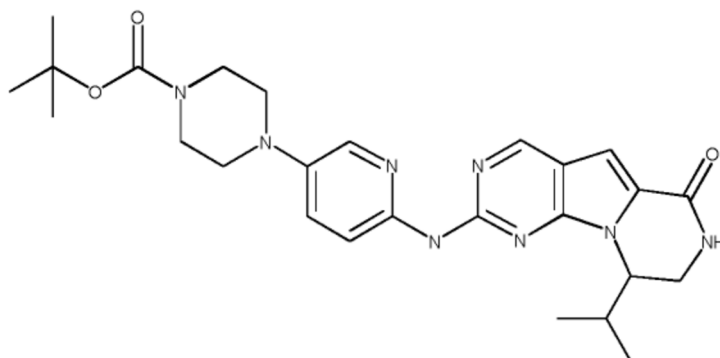


[0356] Al Compuesto 66 (32 mg) se le añadió 3N HCl (10 ml) en isopropanol y los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante la noche durante 16 horas. La concentración proporcionó la sal clorhidrato. ¹H RMN (d6-DMSO) δ ppm 9,13 (m, 2H), 8,11 (m, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,21 (s, 1H), 4,43 (m, 2H), 3,85 (m, 2H), 3,41 (m, 4H), 3,28 (m, 4H), 3,08 (s, 3H). LCMS (ESI) 379 (M + H).

Ejemplo 68

Síntesis del Compuesto 68

[0357]

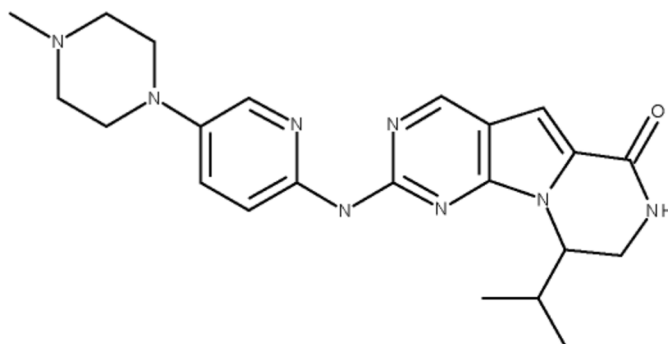


[0358] El Compuesto 68 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para el Compuesto 64. ^1H RMN (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,79 (d, $J = 7,03$ Hz, 3 H) 1,01 (d, $J = 6,73$ Hz, 3 H) 1,35 - 1,48 (m, 9 H) 2,16 (dd, $J = 14,64, 6,73$ Hz, 1 H) 3,00 - 3,14 (m, 4 H) 3,40 - 3,51 (m, 4 H) 3,51 - 3,60 (m, 1 H) 3,63 - 3,74 (m, 1 H) 4,44 (dd, $J = 7,90, 3,81$ Hz, 1 H) 6,99 (s, 1 H) 7,46 (dd, $J = 8,93, 2,78$ Hz, 1 H) 7,94 - 8,09 (m, 2 H) 8,31 (dd, $J = 9,08, 1,46$ Hz, 1 H) 8,85 (s, 1 H) 9,46 (s, 1 H). LCMS (ESI) 507 (M + H).

Ejemplo 69

Síntesis del Compuesto 69

[0359]

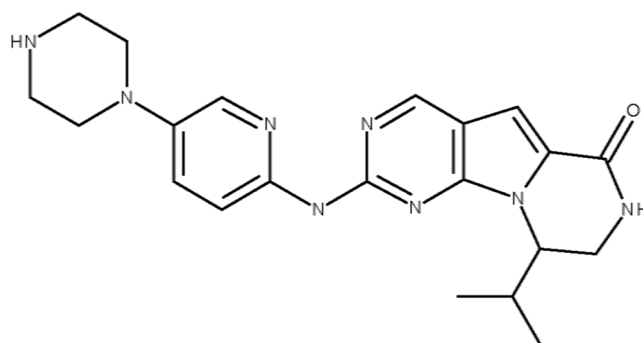


[0360] El Compuesto 69 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para el Compuesto 63 y se recuperó como una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,77 - 0,86 (m, 3 H) 0,96 (d, $J = 7,03$ Hz, 3 H) 2,10 - 2,24 (m, 1 H) 3,07 (s, 3 H) 3,37 - 3,79 (m, 8 H) 4,00 (dd, $J = 13,61, 4,54$ Hz, 2 H) 4,63 - 4,73 (m, 1 H) 7,20 (s, 1 H) 7,58 - 7,71 (m, 1 H) 7,99 (d, $J = 2,34$ Hz, 1 H) 8,12 (d, $J = 9,37$ Hz, 1 H) 9,11 (s, 1 H) 9,41 (br. s., 2 H) 11,76 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

Ejemplo 70

Síntesis del Compuesto 70

[0361]

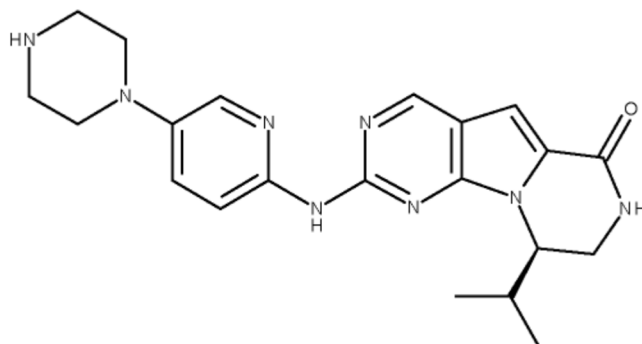


[0362] El Compuesto 70 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como un Sal de HCl. Los datos de caracterización (RMN y LCMS) fueron consistentes con los informados para el Compuesto 71.

Ejemplo 71

Síntesis del Compuesto 71

[0363]

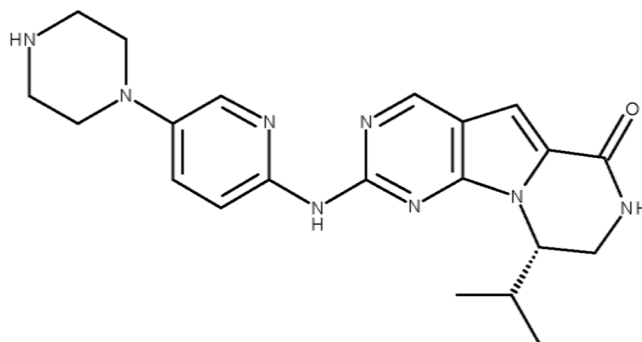


[0364] El Compuesto 71 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,79 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 1,01 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 2,18 (dd, *J* = 14,49, 7,17 Hz, 1 H) 3,18 - 3,84 (m, 10 H) 4,53 - 4,71 (m, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,65 (d, *J* = 9,37 Hz, 1 H) 8,01 (d, *J* = 2,64 Hz, 1 H) 8,14 (d, *J* = 1,46 Hz, 1 H) 8,35 (d, *J* = 5,27 Hz, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 9,46 (s, 2 H) 11,80 (s, 1 H) LCMS (ESI) 407 (M + H)

Ejemplo 72

Síntesis del Compuesto 72 (Compuesto UUU)

[0365]

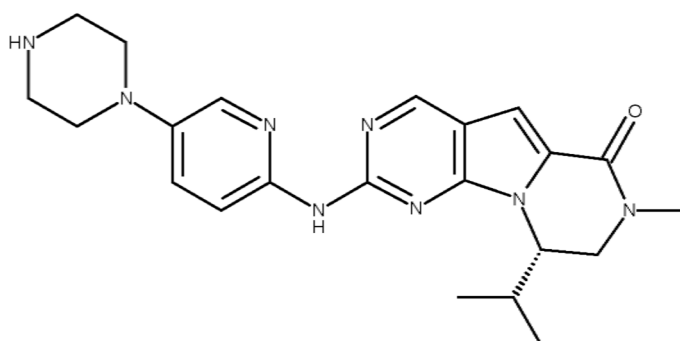


[0366] El Compuesto 72 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,77 (d, *J* = 7,03 Hz, 3 H) 0,99 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 2,10 - 2,24 (m, 1 H) 3,18 - 3,81 (m, 10 H) 4,54 - 4,69 (m, 1 H) 7,22 (s, 1 H) 7,63 (d, *J* = 9,08 Hz, 1 H) 7,99 (d, *J* = 2,63 Hz, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 8,33 (d, *J* = 5,27 Hz, 1 H) 9,12 (s, 1 H) 9,43 (s, 2 H) 11,77 (s, 1 H). LCMS (ESI) 407 (M + H).

Ejemplo 73

Síntesis del Compuesto 73

[0367]

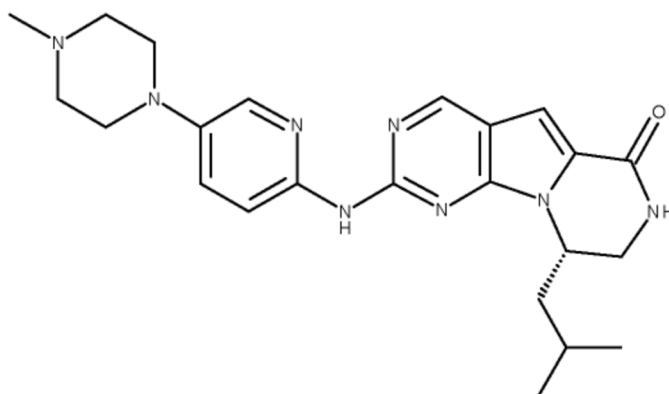


[0368] Compuesto 73 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,84 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 0,98 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 2,12 - 2,26 (m, 1 H) 3,09 (s, 3 H) 3,22 - 3,81 (m, 8 H) 4,01 (dd, J = 13,61, 4,25 Hz, 2 H) 4,59 - 4,72 (m, 1 H) 7,19 (s, 1 H) 7,74 (s, 1 H) 7,96 - 8,10 (m, 2 H) 9,08 (s, 1 H) 9,22 (s, 2 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

Ejemplo 74

Síntesis del Compuesto 74

[0369]

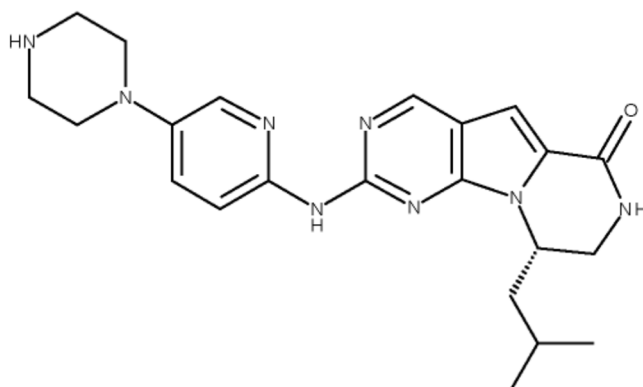


[0370] El Compuesto 74 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para el Compuesto 63 y se recuperó como una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,85 (d, J = 4,98 Hz, 3 H) 0,95 (d, J = 4,98 Hz, 3 H) 1,42 - 1,70 (m, 3 H) 2,77 (d, J = 2,93 Hz, 3 H) 3,07 - 4,14 (m, 10 H) 4,95 (s, 1 H) 7,20 (s, 1 H) 7,66 (d, J = 9,66 Hz, 1 H) 7,94 (s, 1 H) 8,08 - 8,16 (m, 1 H) 8,33 (d, J = 4,68 Hz, 1 H) 9,09 (s, 1 H) 11,38 (s, 1 H) 11,71 (s, 1 H). LCMS (ESI) 435 (M + H).

Ejemplo 75

Síntesis del Compuesto 75

[0371]

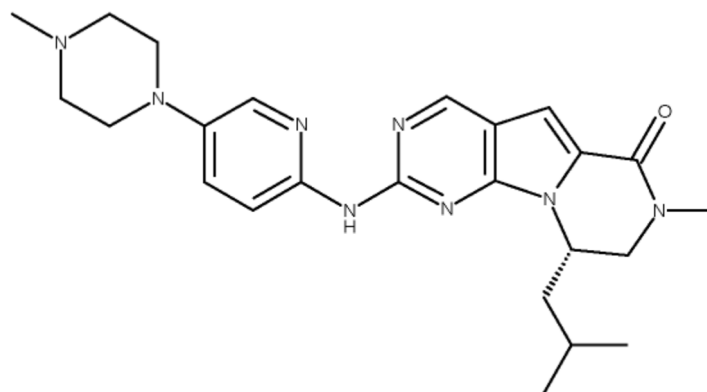


[0372] El Compuesto 75 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como un Sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,87 (d, *J* = 6,15 Hz, 3 H) 0,94 (d, *J* = 6,15 Hz, 3 H) 1,57 (d, *J* = 84,61 Hz, 3 H) 3,05 (s, 3 H) 3,13 - 3,55 (m, 8 H) 3,69 (d, *J* = 78,17 Hz, 2 H) 4,90 (s, 1 H) 7,15 (s, 1 H) 7,63 - 7,85 (m, 1 H) 7,93 (s, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 9,03 (s, 1 H) 9,20 (s, 2 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

Ejemplo 76

Síntesis del Compuesto 76

[0373]

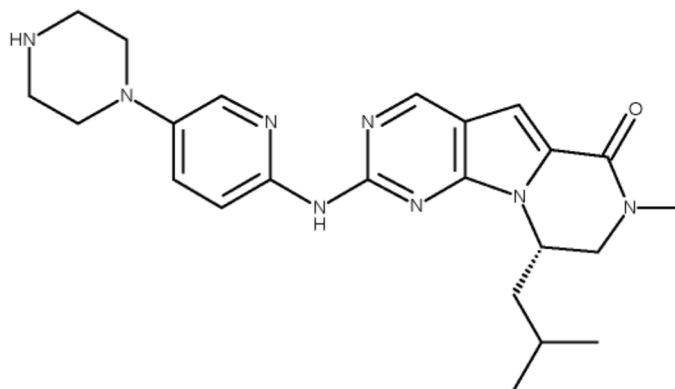


[0374] El Compuesto 76 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para el Compuesto 63 y se recuperó como una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,85 (d, *J* = 6,44 Hz, 3 H) 0,95 (d, *J* = 6,44 Hz, 3 H) 1,43 - 1,70 (m, 3 H) 2,78 (d, *J* = 2,93 Hz, 3 H) 3,05 (s, 3 H) 3,24 - 3,84 (m, 8 H) 4,01 (d, *J* = 9,66 Hz, 2 H) 4,89 - 5,01 (m, 1 H) 7,15 (s, 1 H) 7,77 (s, 1 H) 7,91 - 8,05 (m, 2 H) 9,03 (s, 1 H) 10,96 - 11,55 (m, 2 H). LCMS (ESI) 449 (M + H).

Ejemplo 77

Síntesis del Compuesto 77

[0375]

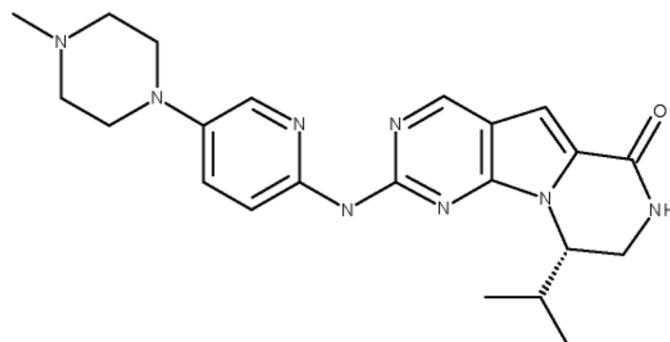


[0376] El Compuesto 77 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como un Sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,83 - 0,88 (d, *J* = 6,15 Hz, 3 H) 0,95 (d, *J* = 6,15 Hz, 3 H) 1,40 - 1,71 (m, 3 H) 3,28 - 3,83 (m, 8 H) 4,00 (d, *J* = 3,22 Hz, 2 H) 4,91 - 5,08 (m, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,68 (d, *J* = 9,66 Hz, 1 H) 7,93 (s, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 9,40 (s, 2 H) 11,59 (s, 1 H). LCMS (ESI) 435 (M + H).

Ejemplo 78

Síntesis del Compuesto 78

[0377]

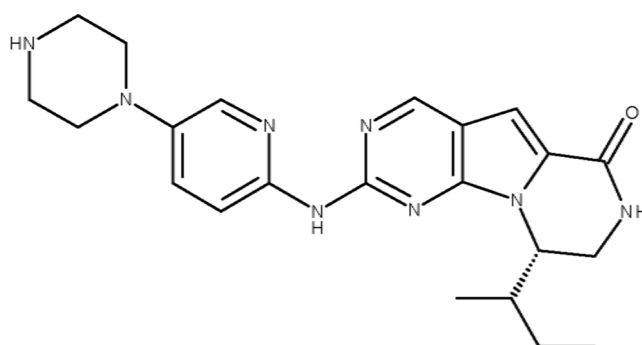


[0378] Al Compuesto 50 se añadieron 0,060 g (0,205 mmol) de 5-(4-metilpiperazina-1-ilo)piridina-2-amina (35,42 mg, 0,9 eq) seguido de la adición de 1,4-dioxano (3 ml). Después de desgasificar con nitrógeno, se añadieron Pd₂dba₃ (12 mg), BINAP (16 mg) y *tert*-butóxido de sodio (24 mg). Luego se calentó el contenido a 90 grados en un microondas CEM Discovery durante 3 h. La reacción se cargó luego en una columna de gel de sílice y se purificó eluyendo con DCM/MeOH (0-15%). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,75 (t, *J* = 7,47 Hz, 3 H) 0,91 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 1,04 - 1,20 (m, 2 H) 1,80 - 1,98 (m, 1 H) 2,77 (d, *J* = 3,81 Hz, 3 H) 2,94 - 3,90 (m, 10 H) 4,54 - 4,68 (m, 1 H) 7,06 - 7,23 (m, 2 H) 7,56 - 7,75 (m, 1 H) 7,90 - 8,12 (m, 2 H) 8,29 (s, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 10,98 - 11,74 (m, 2 H). LCMS (ESI) 435 (M + H).

Ejemplo 79

Síntesis del Compuesto 79

[0379]



[0380] El Compuesto 79 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido del Paso de desbloqueo descrita para compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,75 (t, *J* = 7,32 Hz, 3 H) 0,90 (d, *J* = 6,73 Hz, 3 H) 1,07 - 1,15 (m, 2 H) 1,85 - 1,94 (m, 1 H) 3,17 - 3,75 (m, 10 H) 4,58 - 4,67 (m, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,71 (s, 1 H) 7,96 (s, 1 H) 7,98 - 8,05 (m, 1 H) 8,28 (d, *J* = 4,10 Hz, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 9,39 (s, 2 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

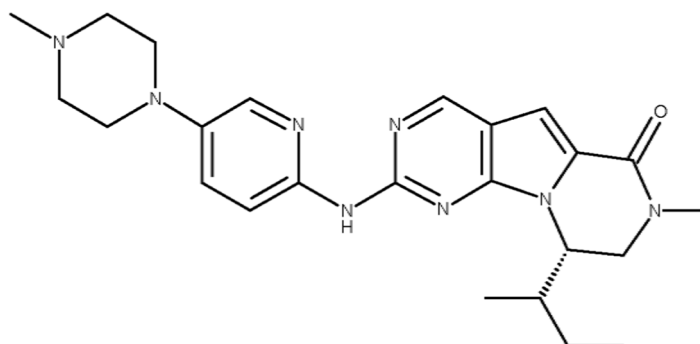
Ejemplo 80

Síntesis del Compuesto 80

[0381]

5

10



15 **[0382]** El Compuesto 80 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,78 (t, J = 7,32 Hz, 3 H) 0,86 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 1,13 -1,21 (m, 2 H) 1,84 -1,96 (m, 1 H) 2,77 (d, J = 4,39 Hz, 3 H) 3,04 (s, 3 H) 3,11 - 3,84 (m, 8 H) 3,98 (dd, J = 13,61, 4,25 Hz, 2 H) 4,66 - 4,74 (m, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,64 (s, 1 H) 7,96 (d, J = 2,34 Hz, 1 H) 8,03 - 8,13 (m, 1 H) 9,08 (s, 1 H) 11,26 (s, 1 H) 11,66 (s, 1 H). LCMS (ESI) 449 (M + H).

20

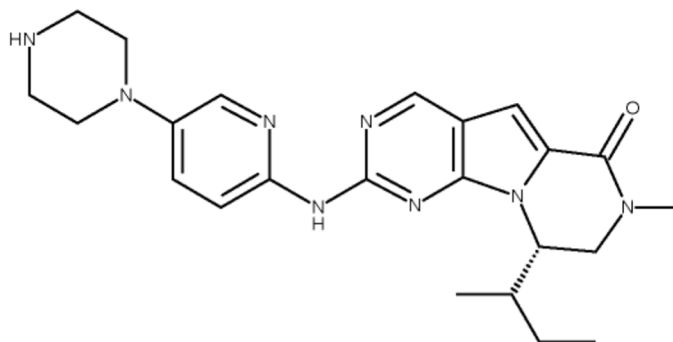
Ejemplo 81

Síntesis del Compuesto 81

25 **[0383]**

30

35



40

45

[0384] El Compuesto se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido por la etapa de desbloqueo descrita para compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,78 (t, J = 7,32 Hz, 3 H) 0,85 (d, J = 6,73 Hz, 3 H) 1,10 -1,27 (m, 2 H) 1,82 -1,99 (m, 1 H) 3,04 (s, 3 H) 3,28 - 3,77 (m, 8 H) 3,97 (dd, J = 13,91, 4,54 Hz, 2 H) 4,62 - 4,75 (m, 1 H) 7,07 - 7,24 (m, 1 H) 7,62 - 7,75 (m, 1 H) 7,94 (d, J = 2,34 Hz, 1 H) 7,97 - 8,08 (m, 1 H) 9,05 (s, 1 H) 9,29 (s, 2 H). LCMS (ESI) 435 (M + H).

Ejemplo 82

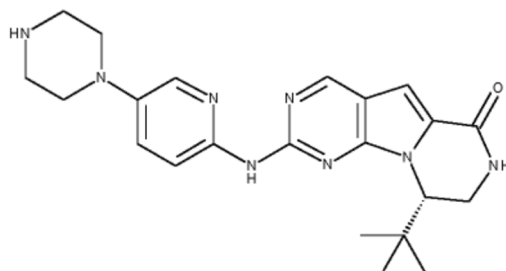
Síntesis del Compuesto 82

50

50 **[0385]**

55

60



65

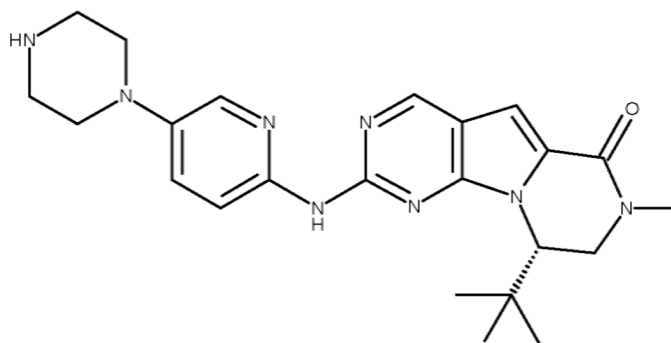
[0386] El Compuesto se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido del Paso de desbloqueo descrito para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,96

(s, 9 H) 3,15 - 3,87 (m, 10 H) 4,42 - 4,53 (m, 1 H) 6,99 (s, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 8,06 (s, 1 H) 8,11 - 8,21 (m, 1 H) 8,79 - 8,98 (m, 2 H) 9,25 (s, 2 H) 9,88 (s, 1 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

Ejemplo 83

Síntesis del Compuesto 83

[0387]

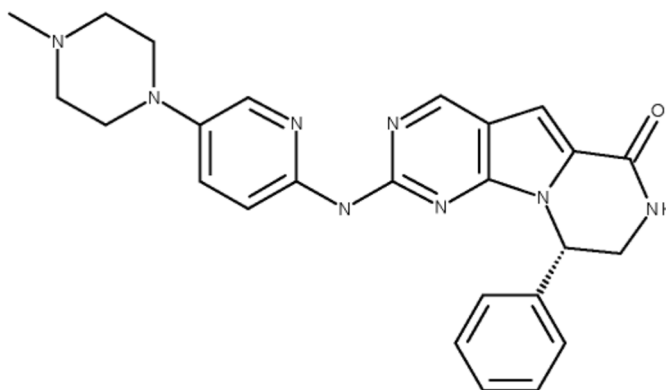


[0388] El Compuesto 83 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido por la etapa de desbloqueo descrita para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,95 (s, 9 H) 2,79 (d, J = 4,10 Hz, 3 H) 3,06 - 3,86 (m, 10 H) 4,56 - 4,67 (m, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,70 (s, 1 H) 7,96 (d, J = 2,63 Hz, 1 H) 7,99 - 8,08 (m, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 10,80 (s, 1 H). LCMS (ESI) 435 (M + H).

Ejemplo 84

Síntesis del Compuesto 84

[0389]

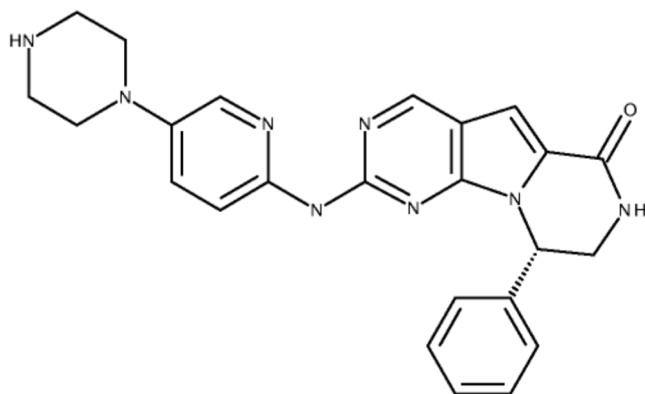


[0390] El Compuesto 84 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,75 - 2,81 (m, 3 H) 3,12 - 3,16 (m, 2 H) 3,46 - 3,54 (m, 4 H) 3,60 - 3,69 (m, 2 H) 3,72 - 3,79 (m, 1 H) 4,07 - 4,18 (m, 2 H) 6,06 - 6,09 (m, 1 H) 6,90 (d, J = 7,61 Hz, 2 H) 7,20 - 7,31 (m, 3 H) 7,33 (s, 1 H) 7,49 - 7,55 (m, 1 H) 7,62 - 7,70 (m, 1 H) 7,92 (d, J = 2,93 Hz, 1 H) 8,22 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H). LCMS (ESI) 455 (M + H).

Ejemplo 85

Síntesis del Compuesto 85

[0391]

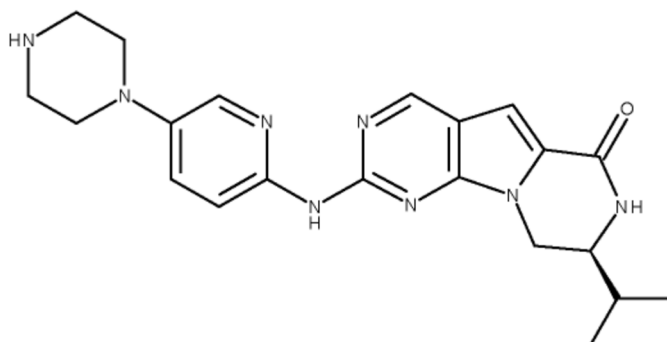


[0392] Compuesto 85 se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido por el desbloqueo paso descrito para el Compuesto 65 y se convirtió a una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,21 (s, 4 H) 3,35 - 3,67 (m, 5 H) 4,07 - 4,20 (m, 2 H) 6,13 (s, 1 H) 6,90 (d, J = 7,32 Hz, 2 H) 7,22 - 7,31 (m, 3 H) 7,36 (s, 1 H) 7,48 (d, J = 9,37 Hz, 1 H) 7,93 (d, J = 2,34 Hz, 1 H) 8,04 - 8,11 (m, 1 H) 8,25 (d, J = 4,98 Hz, 1 H) 9,17 (s, 1 H) 11,77 (br, s., 1H). LCMS (ESI) 441 (M + H).

Ejemplo 86

Síntesis del Compuesto 86

[0393]

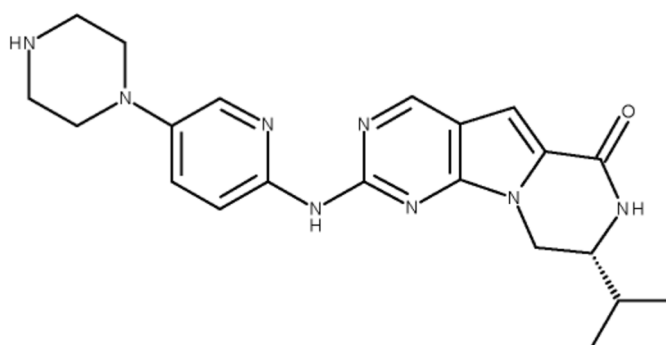


[0394] El Compuesto 86 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido del Paso de desbloqueo descrita para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,90 (d, J = 6,15 Hz, 6 H) 1,72 - 1,89 (m, 1 H) 3,15 - 3,92 (m, 9 H) 4,10 - 4,46 (m, 2 H) 7,18 (s, 1 H) 7,59 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 8,00 (s, 1 H) 8,13 (d, J = 9,37 Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 9,09 (s, 1 H) 9,67 (s, 2 H) 11,91 (s, 1 H). LCMS (ESI) 407 (ESI).

Ejemplo 87

Síntesis del Compuesto 87

[0395]

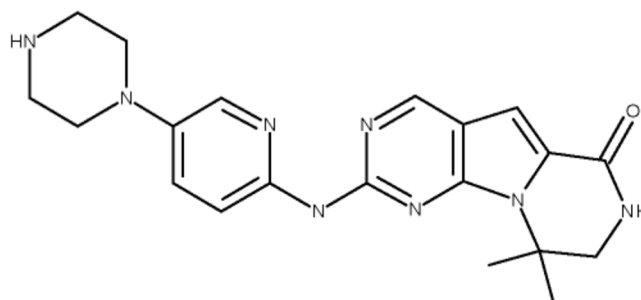


[0396] El Compuesto 87 se sintetizó de una manera similar al compuesto 86 y se convirtió en una sal de HCl. Los datos de caracterización (RMN y LCMS) fueron similares a los obtenidos para el Compuesto antípoda 86.

Ejemplo 88

Síntesis del Compuesto 88

[0397]

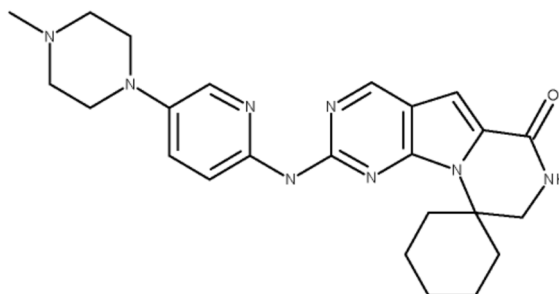


[0398] El Compuesto 88 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido del desbloqueo paso descrito para compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,78 (s, 6 H) 3,40 - 3,53 (m, 6 H) 3,64 - 3,73 (m, 4 H) 7,27 (s, 1 H) 7,66 (d, J = 9,37 Hz, 1 H) 7,98 (d, J = 2,34 Hz, 1 H) 8,12 (br. s., 1 H) 8,47 (br. s., 1 H) 9,11 (s, 1 H) 9,45 (br. s., 2 H) 11,62 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 393 (M + H).

Ejemplo 89

Síntesis del Compuesto 89 (también denominado Compuesto T)

[0399]

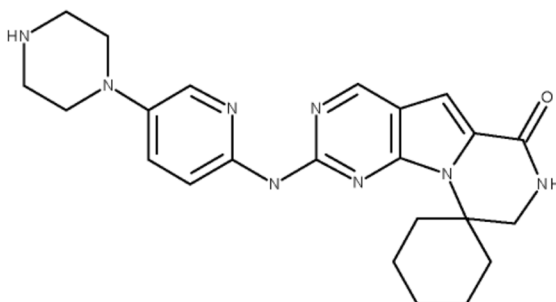


[0400] El Compuesto 89 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,47 (br. s., 6 H) 1,72 (br. s., 2 H) 1,92 (br. s., 2 H) 2,77 (br. s., 3 H) 3,18 (br. s., 2 H) 3,46 (br. s., 2 H) 3,63 (br. s., 2 H) 3,66 (d, J = 6,15 Hz, 2 H) 3,80 (br. s., 2 H) 7,25 (s., 1 H) 7,63 (s. Br., 2 H) 7,94 (s. Br., 1 H) 8,10 (s. Br., 1 H) 8,39 (s. Br., 1 H) 9,08 (br. s., 1 H) 11,59 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 447 (M + H).

Ejemplo 90

Síntesis del Compuesto 90 (también referido como Q Compuesto)

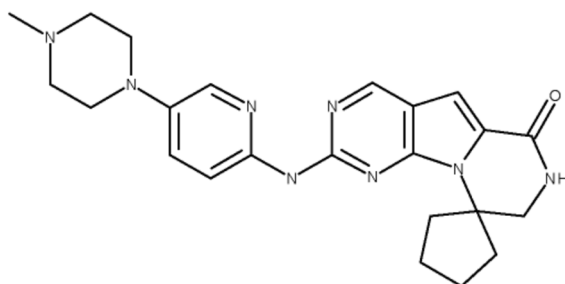
[0401]



[0402] Compuesto 90 se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido por el desbloqueo paso descrito para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,27 -1,64 (m, 6 H) 1,71 (br. s., 2 H) 1,91 (br. s., 2 H) 2,80 (br. s., 1 H) 3,17 - 3,24 (m, 2 H) 3,41 (br. s., 4 H) 3,65 (br. s., 4 H) 7,26 (br. s., 1 H) 7,63 (br. s., 1 H) 7,94 (br. s., 1 H) 8,13 (br. s., 1 H) 8,40 (br. s., 1 H) 9,09 (br. s., 1 H) 9,62 (br. s., 1 H) 11,71 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 433 (M + H).

Ejemplo 91**Síntesis del Compuesto 91 (también denominado Compuesto ZZ)**

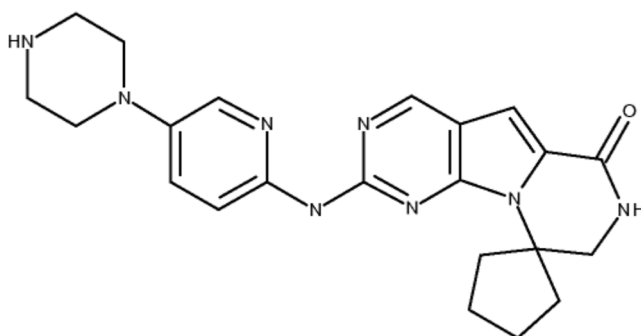
[0403]



[0404] Compuesto 91 se sintetizó utilizando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,64 -1,75 (m, 2 H) 1,83 -1,92 (m, 2 H) 1,96 - 2,06 (m, 2 H) 2,49 - 2,58 (m, 2 H) 2,79 (d, J = 3,81 Hz, 3 H) 3,06 - 3,18 (m, 4 H) 3,59 - 3,69 (m, 2 H) 3,73 - 3,83 (m, 2 H) 4,04 - 4,12 (m, 2 H) 7,17 (br. s., 1 H) 7,60 - 7,70 (m, 2 H) 7,70 - 7,92 (m, 2 H) 7,96 (br. s., 1 H) 8,41 (br. s., 1 H) 8,98 (br. s., 1 H) 10,77 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 433 (M + H).

Ejemplo 92**Síntesis del Compuesto 92**

[0405]



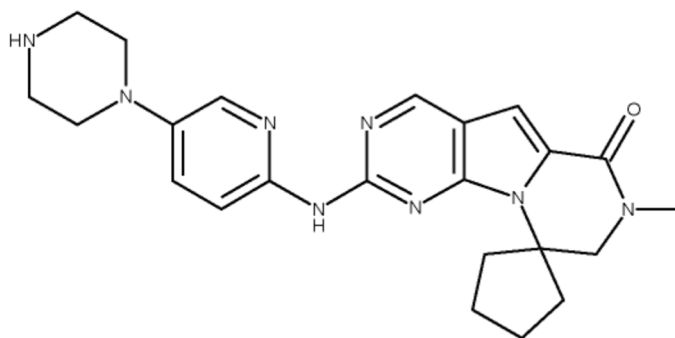
[0406] Compuesto 92 se sintetizó de una manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido por el desbloqueo paso descrito para el Compuesto 65 y se convirtió a una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,64 -1,75 (m, 2 H) 1,84 -1,92 (m, 2 H) 1,96 - 2,05 (m, 2 H) 2,48 - 2,56 (m, 2 H) 3,22 (br. s., 4 H) 3,42 - 3,48 (m, 4 H) 3,60 - 3,69

(m, 2 H) 4,05 - 4,13 (m, 1 H) 7,18 (s, 1 H) 7,65 (d, $J = 13,47$ Hz, 1 H) 7,70 - 7,77 (m, 1 H) 7,94 (d, $J = 1,76$ Hz, 1 H) 8,42 (br. s., 1 H) 9,00 (s, 1 H) 9,15 (br. s., 2 H). LCMS (ESI) 419 (M + H).

Ejemplo 93

Síntesis del Compuesto 93

[0407]

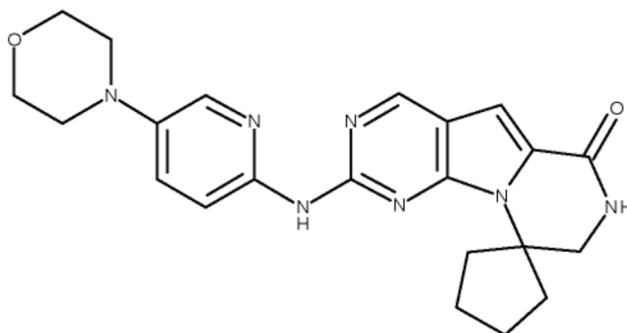


[0408] El Compuesto 93 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 seguido del Paso de desbloqueo descrito para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,76 (br. s., 2 H) 1,89 (br. s., 2 H) 2,03 (br. s., 2 H) 2,47 - 2,58 (m, 2 H) 3,04 (s, 3 H) 3,22 (br. s., 4 H) 3,39 (br. s., 4 H) 3,66 (s, 2 H) 7,21 (s, 1 H) 7,67 (d, $J = 9,37$ Hz, 1 H) 7,93 (br. s., 1 H) 7,98 - 8,09 (m, 1 H) 9,04 (s, 1 H) 9,34 (br. s., 2 H) 11,31 (br. s., 1 H) LCMS (ESI) 433 (M + H).

Ejemplo 94

Síntesis del Compuesto 94

[0409]

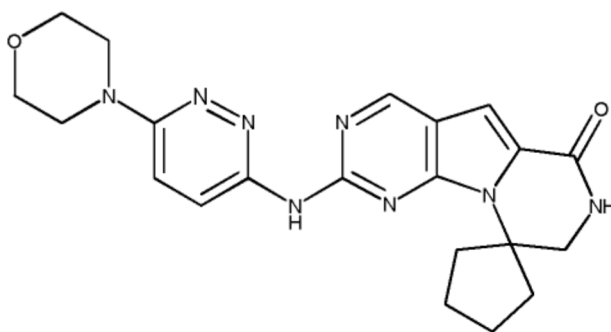


[0410] Compuesto 94 se sintetizó utilizando condiciones similares a la descrita para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,66 - 1,77 (m, 2 H) 1,84 - 1,94 (m, 2 H) 1,96 - 2,08 (m, 2 H) 2,48 - 2,57 (m, 2 H) 3,36 - 3,52 (m, 4 H) 3,60 - 3,80 (m, 6 H) 7,21 (s, 1 H) 7,53 - 7,74 (m, 2 H) 7,86 (s, 1 H) 8,02 (s, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 9,03 (s, 1 H) 11,19 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 420 (M + H).

Ejemplo 95

Síntesis del Compuesto 95

[0411]

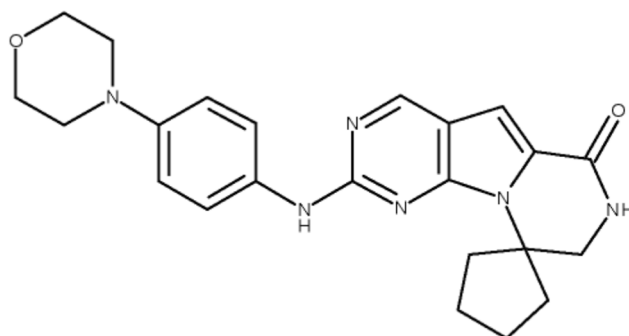


[0412] El Compuesto 95 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,65 -1,79 (m, 2 H) 1,85 -1,95 (m, 2 H) 1,97 - 2,08 (m, 2 H) 2,47 - 2,54 (m, 2 H) 3,40 - 3,58 (m, 5 H) 3,65 (dd, J = 21,67, 5,56 Hz, 1 H) 3,69 - 3,78 (m, 4 H) 7,24 (s, 1 H) 7,97 - 8,17 (m, 2 H) 8,48 (s, 1 H) 9,08 (s, 1 H) 11,81 (s, 1 H). LCMS (ESI) 421 (M + H).

Ejemplo 96

Síntesis del Compuesto 96

[0413]

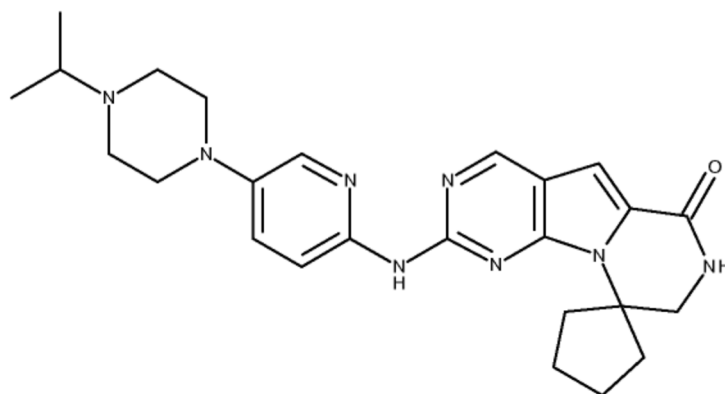


[0414] El Compuesto 96 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,55 -1,74 (m, 2 H) 1,80 -1,98 (m, 4 H) 2,48 - 2,60 (m, 2 H) 3,40 - 3,50 (m, 4 H) 3,57 - 3,72 (m, 2 H) 3,90 - 4,20 (m, 4 H) 7,08 (s, 1 H) 7,37 - 7,57 (m, 2 H) 7,70 (m, 2 H) 8,32 (s, 1 H) 8,88 (s, 1 H) 9,98 (s, 1 H). LCMS (ESI) 419 (M + H).

Ejemplo 97

Síntesis del Compuesto 97 (también denominado Compuesto III)

[0415]



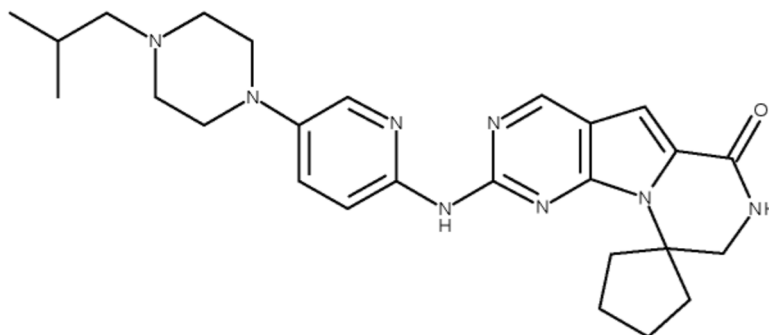
[0416] El Compuesto 97 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,30 (d, J = 5,27 Hz, 6 H) 1,65 -1,78 (m, 2 H) 1,83 -1,95 (m,

2 H) 1,97 - 2,10 (m, 2 H) 2,45 - 2,55 (m, 2H) 3,25 - 3,36 (m, 1 H) 3,39 - 3,48 (m, 4 H) 3,60 - 3,70 (m, 4 H) 3,75 - 4,15 (m, 2 H) 7,24 (s, 1 H) 7,54 - 7,75 (m, 2 H) 7,95 (s, 1 H) 8,10 (s, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 11,25 (s, 1 H) 11,48 (s, 1 H). LCMS (ESI) 461 (M + H).

5 Ejemplo 98

Síntesis del Compuesto 98

[0417]

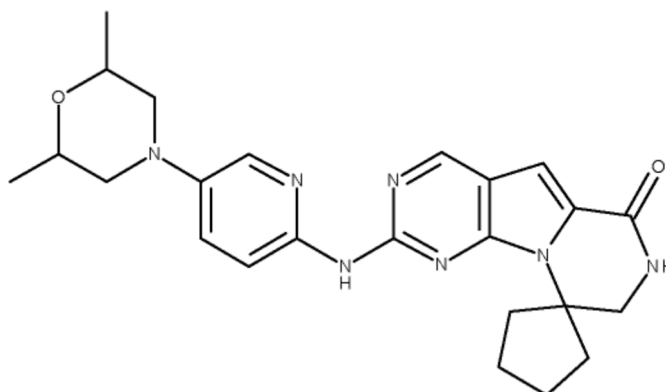


[0418] El Compuesto 98 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,99 (d, *J* = 6,15 Hz, 6 H) 1,65 - 1,78 (m, 2 H) 1,90 (m, 2 H) 1,97 - 2,08 (m, 2 H) 2,08 - 2,17 (m, 1 H) 2,45 - 2,55 (m, 2H) 2,88 - 3,02 (m, 2 H) 3,33 - 3,48 (m, 4 H) 3,50 - 3,90 (m, 6 H) 7,24 (s, 1 H) 7,67 (s, 2 H) 7,94 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 10,77 (s, 1 H) 11,51 (s, 1 H). LCMS (ESI) 475 (M + H).

Ejemplo 99

Síntesis del Compuesto 99

[0419]

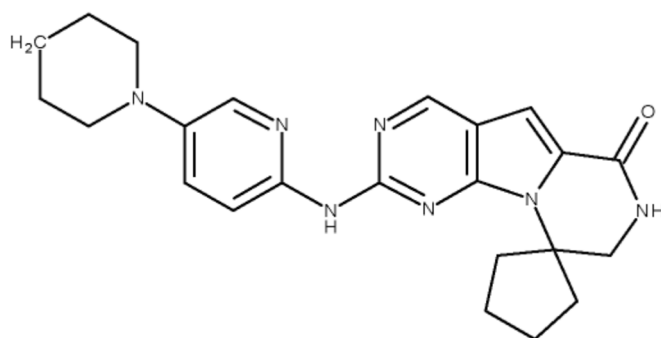


[0420] El Compuesto 99 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,13 (d, *J* = 5,86 Hz, 6 H) 1,66 - 1,77 (m, 2 H) 1,84 - 1,94 (m, 2 H) 1,97 - 2,09 (m, 2 H) 2,40 - 2,53 (m, 2 H) 3,37 - 3,49 (m, 2 H) 3,50 - 3,59 (m, 2 H) 3,59 - 3,73 (m, 4 H) 7,23 (s, 1 H) 7,64 (m, 3 H) 7,85 (s, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 8,47 (s, 1 H) 9,05 (s, 1 H). 11,35 (br s., 1H). LCMS (ESI) 448 (M + H).

Ejemplo 100

Síntesis del Compuesto 100

[0421]

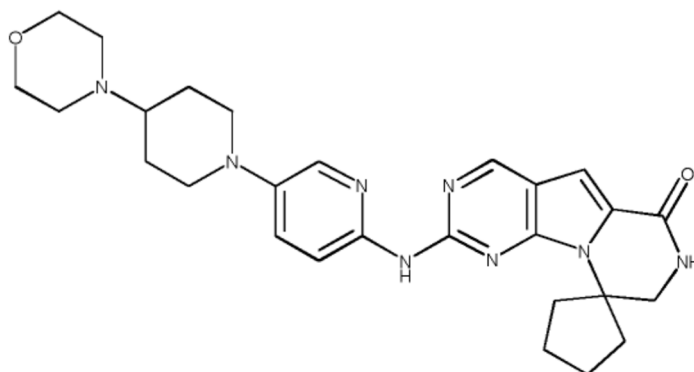


[0422] El Compuesto 100 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,50 -1,57 (m, 2 H) 1,62 -1,68 (m, 3 H) 1,68 - 1,75 (m, 2 H) 1,84 -1,92 (m, 2 H) 1,97 - 2,08 (m, 2 H) 2,48 - 2,53 (m, 2 H) 3,14 - 3,23 (m, 4 H) 3,43 - 3,47 (m, 2 H) 3,58 - 3,70 (m, 2 H) 7,22 (s, 1 H) 7,58 - 7,70 (m, 2 H) 7,85 - 8,00 (m, 1 H) 8,16 (d, 1 H) 8,46 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H) 11,37 (br s., 1H). LCMS (ESI) 418 (M + H).

Ejemplo 101

Síntesis del Compuesto 101 (también denominado Compuesto WW)

[0423]

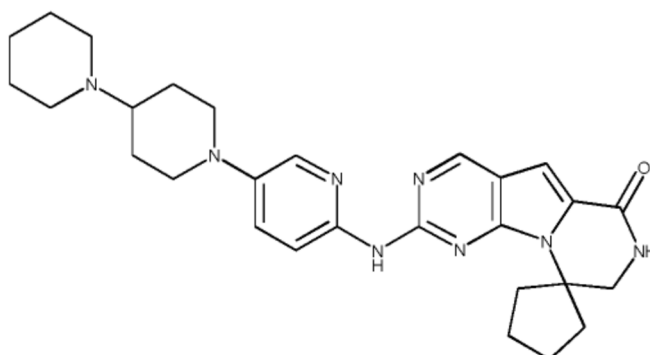


[0424] El Compuesto 101 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 (s, 2 H) 1,90 (s, 4 H) 2,03 (s, 2 H) 2,21 (s, 2 H) 2,48 - 2,54 (m, 2 H) 2,73 (s, 2 H) 3,03 (s, 2 H) 3,25 - 3,35 (m, 1 H) 3,38 - 3,48 (m, 4 H) 3,65 - 3,99 (m, 5 H) 7,23 (s, 1 H) 7,63 (d, J = 9,66 Hz, 1 H) 7,90 (s, 1 H) 8,13 (s, 1 H) 8,47 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 10,50 (br s., 1H). LCMS (ESI) 503 (M + H).

Ejemplo 102

Síntesis del Compuesto 102 (también denominado Compuesto HHH)

[0425]

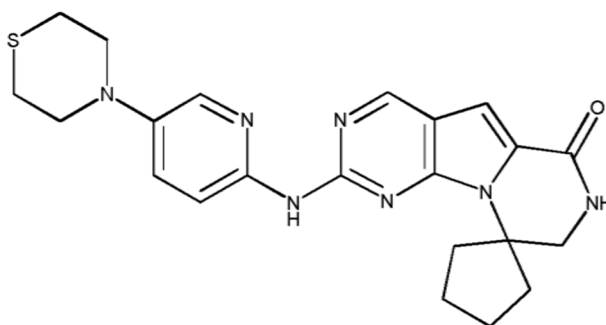


[0426] El Compuesto 102 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,63 -1,85 (m, 6 H) 1,87 -1,92 (m, 2 H) 1,99 - 2,06 (m, 2 H) 2,15 - 2,23 (m, 2 H) 2,47 - 2,53 (m, 1 H) 2,69 - 2,79 (m, 2 H) 2,81 - 2,91 (m, 2 H) 2,98 - 3,08 (m, 2 H) 3,32 - 3,48 (m, 4 H) 3,57 - 3,72 (m, 4 H) 3,77 - 3,85 (m, 2 H) 7,22 (s, 1 H) 7,60 - 7,68 (m, 2 H) 7,90 (s, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 8,46 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H). 11,41 (br s., 1H). LCMS (ESI) 501 (M + H).

Ejemplo 103

Síntesis del Compuesto 103

[0427]

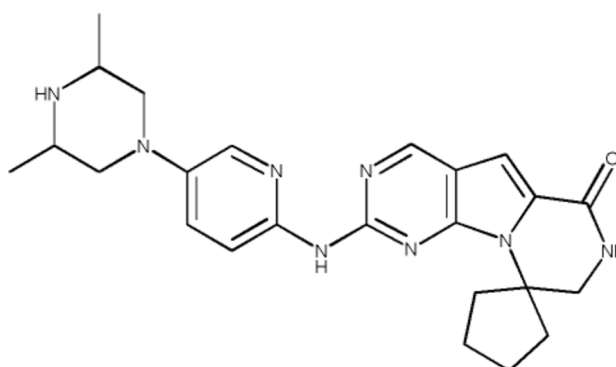


[0428] El Compuesto 103 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,64 -1,76 (m, 2 H) 1,87 -1,93 (m, 2 H) 2,00 - 2,07 (m, 2 H) 2,48 - 2,53 (m, 2 H) 2,67 - 2,72 (m, 4 H) 3,44 - 3,47 (m, 2 H) 3,50 - 3,55 (m, 4 H) 7,24 (s, 1 H) 7,61 (d, J = 9,37 Hz, 2 H) 7,86 (d, J = 2,63 Hz, 1 H) 8,09 (d, J = 12,88 Hz, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 11,41 (br s., 1H). LCMS (ESI) 436 (M + H).

Ejemplo 104

Síntesis del Compuesto 104

[0429]

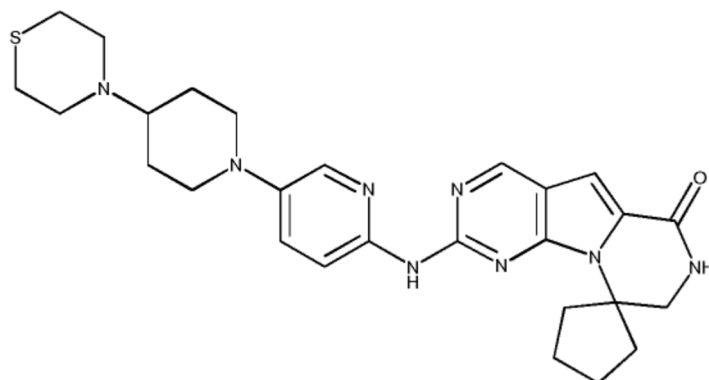


[0430] El Compuesto 104 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,29 (d, J = 6,73 Hz, 6 H) 1,66 - 1,79 (m, 2 H) 1,84 - 1,95 (m, 2 H) 1,98 - 2,09 (m, 2 H) 2,46 - 2,55 (m, 2 H) 3,29 - 3,39 (m, 2H) 3,58 - 3,70 (m, 4H) 3,77 - 3,86 (m, 4H) 7,24 (s, 1 H) 7,66 (d, J = 9,37 Hz, 1 H) 7,96 (d, J = 2,93 Hz, 1 H) 8,08 (s, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 9,28 (s, 1 H) 9,67 (s, 1 H) 11,36 (s, 1H). LCMS (ESI) 447 (M + H).

Ejemplo 105

Síntesis del Compuesto 105

[0431]

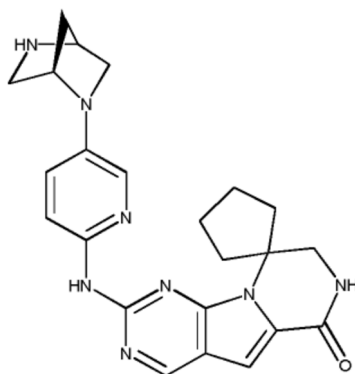


[0432] El Compuesto 105 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,73 (s, 2 H) 1,76 -1,85 (m, 2 H) 1,85 -1,94 (m, 2 H) 1,98 -2,07 (m, 2 H) 2,19 - 2,26 (m, 2 H) 2,48 - 2,52 (m, 1 H) 2,70 - 2,81 (m, 4 H) 3,13 - 3,20 (m, 1 H) 3,30 - 3,48 (m, 3 H) 3,58 - 3,71 (m, 4 H) 3,78 - 3,84 (m, 4 H) 7,24 (s, 1 H) 7,62 (d, $J = 9,37$ Hz, 2 H) 7,89 (d, $J = 1,17$ Hz, 1 H) 8,09 - 8,18 (m, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 9,06 (s, 1 H) 11,46 (br s., 1H). LCMS (ESI) 519 (M + H).

Ejemplo 106

Síntesis del Compuesto 106

[0433]

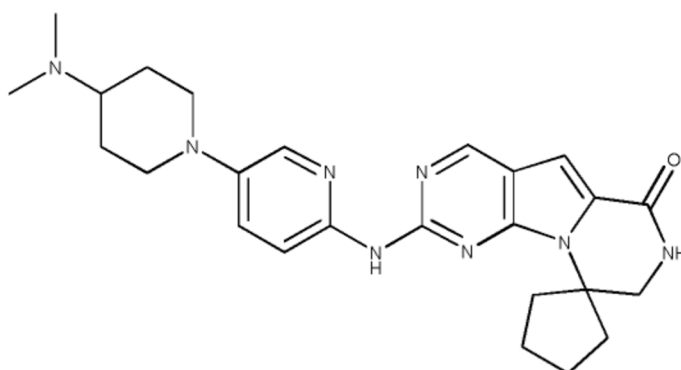


[0434] El Compuesto 106 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 seguido del Paso de desbloqueo descrita para el Compuesto 65 y se convirtió en una sal de HCl. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,65 -1,75 (m, 2 H) 1,85 -1,93 (m, 2 H) 1,93 -1,99 (m, 1 H) 2,00 - 2,06 (m, 2 H) 2,08 - 2,14 (m, 1 H) 2,47 - 2,55 (m, 2 H) 3,07 - 3,25 (m, 2 H) 3,25 - 3,69 (m, 5 H) 4,46 (s, 1 H) 4,67 (s, 1 H) 7,22 (s, 1 H) 7,58 - 7,69 (m, 2 H) 8,46 (s, 1 H) 9,02 (s, 1 H) 9,34 (s, 1 H) 9,65 (s, 1 H). LCMS (ESI) 431 (M + H).

Ejemplo 107

Síntesis del Compuesto 107 (también denominado Compuesto YY)

[0435]

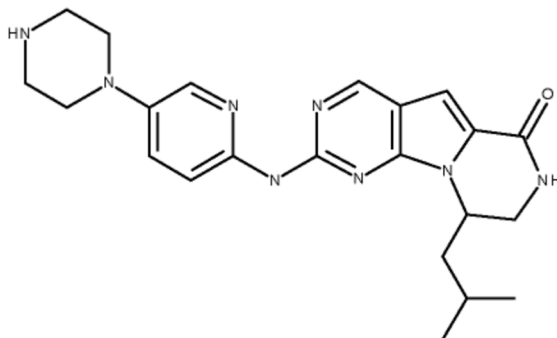


[0436] El Compuesto 107 se sintetizó usando condiciones similares a las descritas para el Compuesto 78 y se convirtió en una sal de HCl. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,65 -1,82 (m, 3 H) 1,89 (br. s., 2 H) 1,98 - 2,08 (m, 2 H) 2,13 (br. s., 2 H) 2,47 - 2,55 (m, 2 H) 2,68 (d, J = 4,98 Hz, 6 H) 2,71 - 2,80 (m, 2 H) 3,29 - 3,71 (m, 10 H) 7,16 - 7,26 (m, 1 H) 7,67 (d, J = 9,66 Hz, 2 H) 7,91 (d, J = 2,05 Hz, 1 H) 8,14 (br. s., 1 H) 8,48 (br. s., 1 H) 9,05 (s, 1 H) 11,14 (br. s., 1 H) 11,43 (br. s., 1 H). LCMS (ESI) 461 (M + H).

Ejemplo 108

Síntesis del Compuesto 108

[0437]

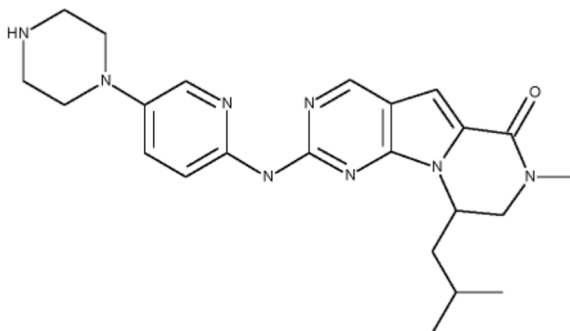


[0438] El Compuesto 108 se sintetizó de una manera similar a la descrita para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como una Sal de HCl. Los datos analíticos fueron consistentes con los descritos para el Compuesto antípoda 75.

Ejemplo 109

Síntesis del Compuesto 109

[0439]

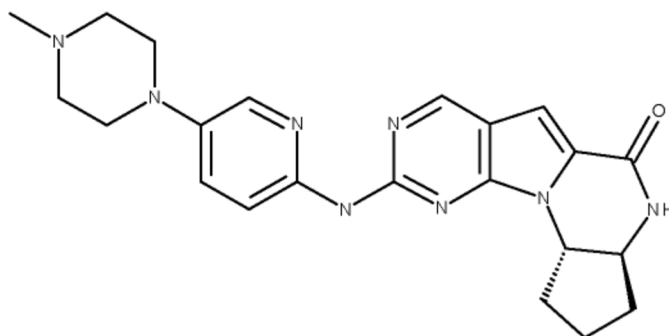


[0440] El Compuesto 109 se sintetizó de una manera similar a la descrita para los compuestos 64 y 65 y se recuperó como una sal de HCl. Los datos analíticos fueron consistentes con los descritos para el Compuesto antípoda 75.

Ejemplo 110

Síntesis del Compuesto 110

[0441]

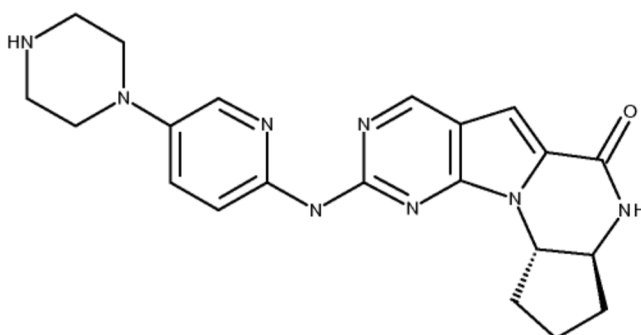


[0442] El Compuesto 110 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 y luego se convirtió en su sal de hidrocloreuro. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,50 - 1,65 (m, 1 H) 1,92 - 2,02 (m, 3 H) 2,06 - 2,15 (m, 1 H) 2,78 (d, J = 3,81 Hz, 4 H) 3,10 - 3,20 (m, 4 H) 3,47 - 3,51 (m, 2 H) 3,64 - 3,71 (m, 1 H) 3,76 - 3,83 (m, 2 H) 3,98 - 4,14 (m, 1 H) 7,20 (s, 2 H) 7,77 (s, 1 H) 7,97 (s, 2 H) 8,81 (s, 1 H) 9,03 (s, 1 H) 10,97 (br s., 1H). LCMS (ESI) 419 (M + H).

Ejemplo 111

Síntesis del Compuesto 111

[0443]

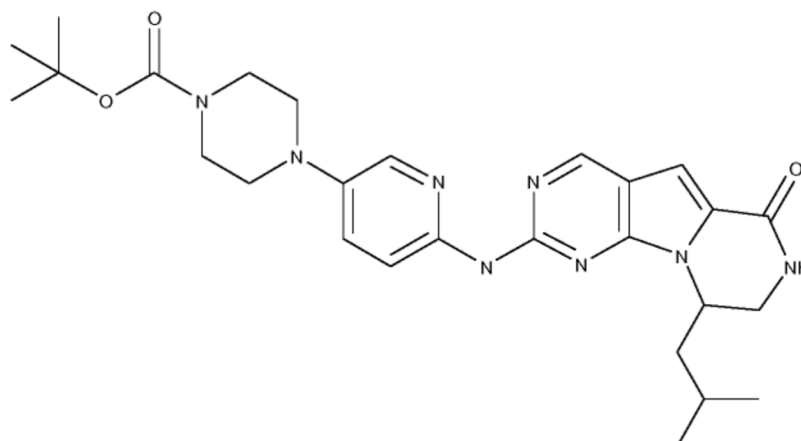


[0444] El Compuesto 111 se sintetizó de manera similar a la descrita para el Compuesto 78 y luego se convirtió en su sal de hidrocloreuro. ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,54 - 1,59 (m, 1 H) 1,92 - 2,01 (m, 3 H) 2,06 - 2,15 (m, 1 H) 2,76 - 2,84 (m, 1 H) 3,17 - 3,24 (m, 6 H) 3,64 - 3,71 (m, 2 H) 4,02 - 4,11 (m, 2 H) 7,22 (s, 2 H) 7,64 (s, 1 H) 7,97 (s, 2 H) 8,75 (s, 1 H) 8,97 (s, 1 H) 9,21 (s, 1 H). LCMS (ESI) 405 (M + H).

Ejemplo 112

Síntesis del Compuesto 112

[0445]

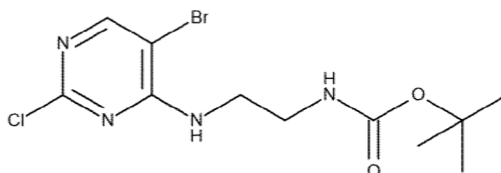


[0446] El Compuesto 112 se sintetizó usando condiciones experimentales similares a las descritas para el Compuesto 64.

Ejemplo 113

Síntesis de *terc*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato, Compuesto 113

[0447]

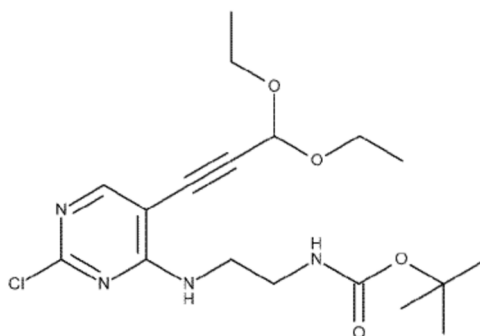


[0448] A una solución de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (Se añadieron 12,80 g, 0,054 moles) en etanol (250 ml) a la base de Hunig (12,0 ml) seguido de la adición de una solución de N-(*terc*-butoxicarbonilo)-1,2-diaminoetano (10 g, 0,0624 moles) en etanol (80 ml). Los contenidos se agitaron durante la noche durante 20 h. El disolvente se evaporó al vacío. Se añadieron acetato de etilo (800 ml) y agua (300 ml) y las capas se separaron. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío. La cromatografía en columna sobre gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0-60%) proporcionó N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato de *terc*-butilo. LCMS (ESI) 351 (M + H).

Ejemplo 114

Síntesis de *terc*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato, Compuesto 114

[0449]

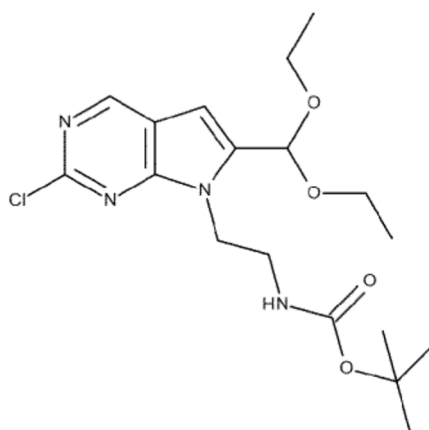


[0450] A *terc*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato (5 g, 14,23 mmoles) en tolueno (42 ml) y trietilamina (8,33 ml) bajo nitrógeno se añadió trifenoil arsina (4,39 g), 3,3-dietoxiprop-1-eno (3,24 ml) y Pddba (1,27 g). El contenido se calentó a 70 grados durante 24 h. Después de la filtración a través de CELITE®, la reacción bruta se colocó en columna usando hexano/acetato de etilo (0-20%) para proporcionar el producto deseado 3,9 g). La cromatografía en columna del residuo resultante utilizando hexano/acetato de etilo (0-30%) proporcionó *terc*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ino)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 399 (M + H).

Ejemplo 115

Síntesis de *terc*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato, Compuesto 115

[0451]

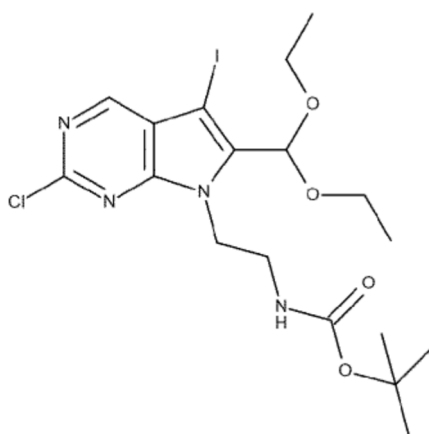


[0452] A una solución del Compuesto 114 (3,9 g, 0,00976 moles) en THF(60 ml) se le añadió TBAF (68,3 ml, 7 eq). Los contenidos se calentaron a 45 grados durante 2 hs. La concentración seguida de cromatografía en columna usando acetato de etilo/hexano (0-50%) proporcionó *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato como un líquido marrón pálido (1,1 g). ¹H RMN (d6-DMSO) δ ppm 8,88 (s, 1H), 6,95 (brs, 1H), 6,69 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 4,29 (m, 2H), 3,59 (m, 4H), 3,34 (m, 1H), 3,18 (m, 1H), 1,19 (m, 9H), 1,17 (m, 6H). LCMS (ESI) 399 (M + H).

Ejemplo 116

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-yodo-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato, Compuesto 116

[0453]

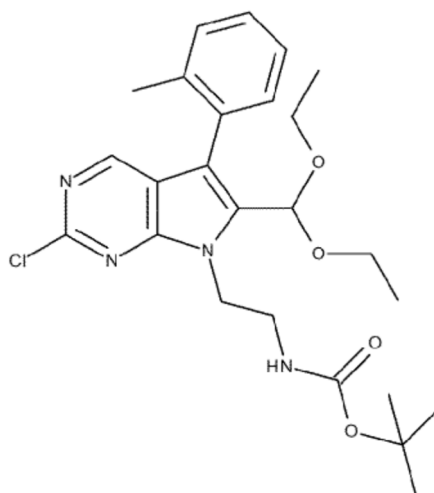


[0454] A *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato (0,1 g, 0,00025 mol) en acetonitrilo (2 ml) se añadió 1,3-diiodo-5,5-dimetilhidantoína (95 mg, 1 eq), y sólido NaHCO₃ (63 mg, 3 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se filtró y se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0 - 50%) para proporcionar *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-yodo-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato como un sólido amarillo pálido (0,03 g). LCMS (ESI) 525 (M + H).

Ejemplo 117

Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-(o-tolilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato, Compuesto 117

[0455]

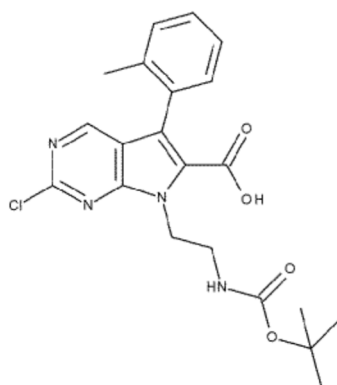


[0456] A *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-yodo-pirrol[2,3-d] pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato (0,1 g, 0,19 mmol) en dioxano (3 ml) se añadió ácido 2-metilfenilborónico (28 mg), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (25 mg) y fosfato de potasio (250 mg) en agua (0,3 ml). La reacción se calentó en un microondas CEM Discovery a 90°C durante 3 h. La reacción cruda se cargó en gel de sílice y se colocó en columna usando hexano/acetato de etilo (0-30%) para proporcionar *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-(*o*-tolilo)pirrol[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato (0,06 g). LCMS (ESI) 489 (M + H).

Ejemplo 118

Síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrol[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 118

[0457]

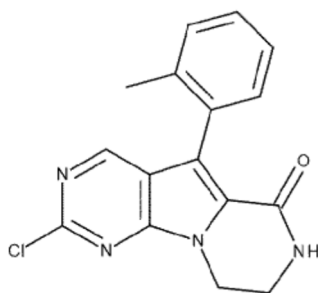


[0458] A *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)-5-(*o*-tolilo)pirrol[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato (0,85 g, 1,74 mmoles) en AcOH (10 ml) se añadió agua (1,5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción cruda se concentró luego al vacío. Después de la adición de acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se lavó con NaHCO₃ sat.. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar el intermedio bruto, *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-formil-5-(*o*-tolilo)pirrol[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. A este intermedio crudo en DMF (5 ml) se le añadió oxona (1,3 g). Después de agitar durante 2,5 horas, se añadieron agua (20 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se separó, se secó y luego se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto que se columnó sobre gel de sílice usando hexano/acetato de etilo (0 - 50%) para proporcionar 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrol[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico (0,112 g). LCMS (ESI) 431 (M + H).

Ejemplo 119

Síntesis del Compuesto 119

[0459]

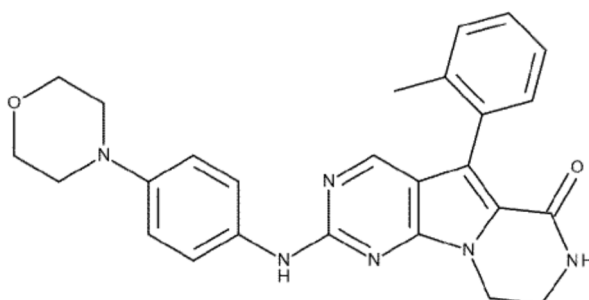


[0460] A 7-[2-(terc-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(o-tolilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico (0,1 g, 0,261 mmol) en DCM (4,1 ml) se añadió DMAP (20 mg) seguido de la adición de N,N'-diisopropilcarbodiimida (0,081 ml, 2 eq). Después de agitar durante 3 h, se añadió TFA (0,723 ml). Luego se continuó la agitación durante otros 30 minutos. La mezcla de reacción se neutralizó con NaHCO₃ sat.. Luego se añadió DCM (20 ml) y la capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio y luego se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto que se colocó en columna usando hexano/acetato de etilo (0-100%) para proporcionar el Compuesto 119 de amida clorotricíclica (0,65 sol). LCMS (ESI) 313 (M + H).

Ejemplo 120

Síntesis del Compuesto 120

[0461]

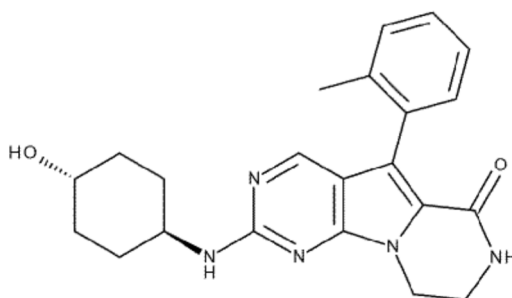


[0462] A la amida clorotricíclica (0,040 g, 0,128 mmoles) (Compuesto 119) en dioxano (2,5 ml) en nitrógeno se le añadió Pd₂(dba)₃ (12 mg), sodio terc-butoxido (16 mg), BINAP (16 mg) y 4-morfolinoanilina (22,7 mg, 1 eq). La mezcla de reacción se calentó a 90°C en un microondas CEM Discovery durante 3,0 h. La reacción cruda se cargó en una columna de gel de sílice y el contenido se eluyó con DCM/MeOH (0-6%) para proporcionar el producto (10 mg). LCMS (ESI) 455 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,14 (s, 3 H) 3,23 - 3,50 (m, 2 H) 3,57 - 3,73 (m, 2 H), 3,81 - 3,92 (m, 8H), 7,11 - 7,31 (m, 4 H) 7,31 - 7,48 (m, 1 H) 7,58 - 7,73 (m, 1 H) 7,77 - 7,95 (m, 2 H) 8,05 - 8,21 (m, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 9,85 -10,01 (m, 1 H).

Ejemplo 121

Síntesis del Compuesto 121

[0463]



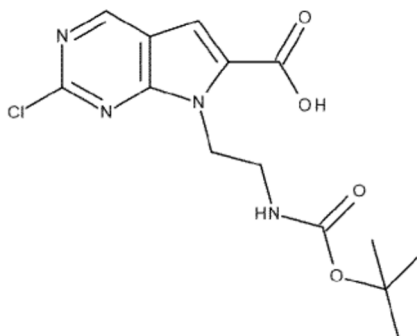
[0464] A la amida clorotricíclica (0,024 g) (Compuesto 119) en N-metilo-2-pirrolidona (NMP) (1,5 ml) se añadió trans-4-aminociclohexanol (0,0768 mmol, 26,54 mg, 3 eq) y la base de Hunig (0,4 ml). La reacción se calentó en un recipiente

de microondas CEM Discovery a 150°C durante 1,2 h. La reacción cruda se cargó en una columna de gel de sílice y el contenido se eluyó con DCM/MeOH (0-10%) para proporcionar el producto (21 mg). LCMS (ESI) 392 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,23 (d, J = 8,78 Hz, 4 H) 1,84 (br. s., 4 H) 2,11 (s, 3 H) 3,34 - 3,43 (m, 1 H) 3,55 (br. s., 2 H) 3,72 (br. s., 1 H) 4,13 (br. s., 2 H) 4,50 (br. s., 1 H) 7,03 (br. s., 1 H) 7,12 - 7,28 (m, 4 H) 7,96 (br. s., 1 H) 8,18 (br. s., 1 H).

Ejemplo 122

Síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 122

[0465]

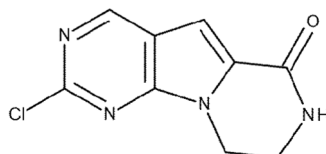


[0466] 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó usando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 341 (M + H).

Ejemplo 123

Síntesis del Compuesto 123

[0467]

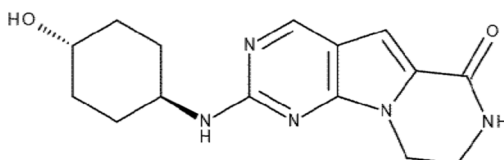


[0468] La amida clorotricíclica, Compuesto 123, se sintetizó usando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de amida clorotricíclica (Compuesto 119). LCMS (ESI) 223 (M + H).

Ejemplo 124

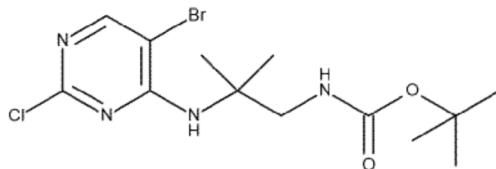
Síntesis del Compuesto 124

[0469]

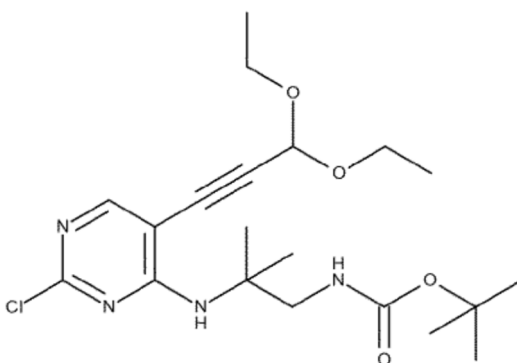


[0470] A la amida clorotricíclica, Compuesto 123 (0,035 g, 0,00157 moles) en NMP (1,5 ml) se añadió la base de Hunig (0,3 ml) seguido de la adición del *trans*-4-aminociclohexanol (54,2 mg). La mezcla de reacción se calentó a 150°C durante 1,5 h. La reacción cruda se cargó en una columna de gel de sílice y la columna se eluyó con DCM/MeOH (0-10 %) para proporcionar el producto (5 mg). LCMS (ESI) 302 (M + H).

Ejemplo 125

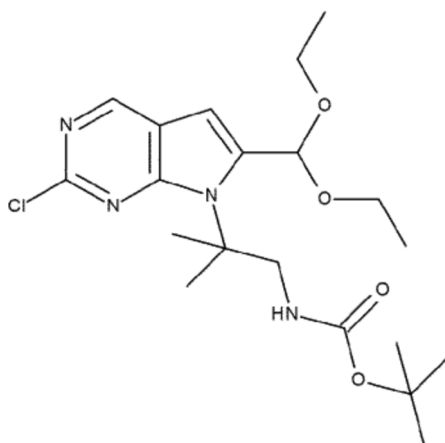
Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilpropilo]carbamato, Compuesto 125**[0471]**

[0472] *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilo-propilo]carbamato se sintetizó tratando 5-bromo-2,4-dicloropirimidina con *tert*-butilo N-(2-amino-2-metilo-propilo)carbamato usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) (M + H) 379.

Ejemplo 126**Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato, Compuesto 126****[0473]**

[0474] *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilpropilo]carbamato se sintetizó mediante el tratamiento de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilo-propilo]carbamato con 3,3-dietoxiprop-1-eno en presencia de un catalizador como Pd(PPh₃)₄ usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) (M + H) 427.

Ejemplo 127**Síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]-2-metilo-propilo]carbamato, Compuesto 127****[0475]**

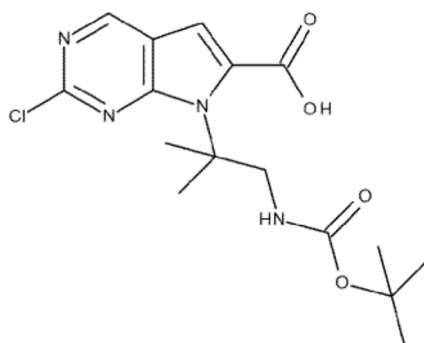


[0476] *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]-2-metilpropilo]carbamato se sintetizó tratando el *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato con TBAF usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. LCMS (ESI) (M + H) 427.

Ejemplo 128

Síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,1-dimetilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 128

[0477]

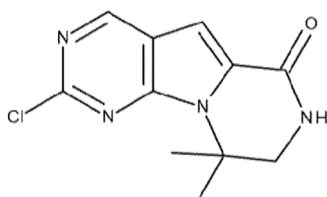


[0478] 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,1-dimetilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 369 (M + H).

Ejemplo 129

Síntesis del Compuesto 129

[0479]

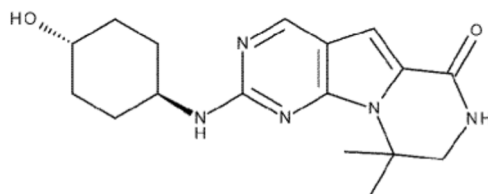


[0480] La amida clorotricíclica, Compuesto 129, se sintetizó usando un procedimiento similar al descrito para la síntesis de amida clorotricíclica, Compuesto 119. LCMS (ESI) 251 (M + H).

Ejemplo 130

Síntesis del Compuesto 130

[0481]

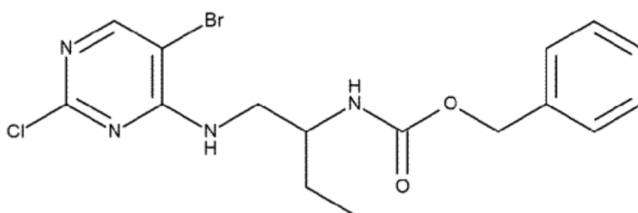


[0482] El Compuesto 130 se sintetizó tratando la amina clorotricíclica Compuesto 129 con trans-4-aminociclohexanol usando condiciones experimentales similares a las del Compuesto 124. LCMS (ESI) 330 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO d₆) δ ppm 1,07 - 1,34 (m, 4 H) 1,47 - 2,05 (m, 10 H) 3,09 (m, 1H) 3,51 (d, J = 2,91 Hz, 2 H) 3,57 (m, 1H) 4,50 (br. s., 1 H) 6,89 (s, 1 H) 6,94 - 7,05 (m, 1 H) 8,04 (br. s., 1 H) 8,60 (s, 1 H) 9,00 (br s., 1 H).

Ejemplo 131

Síntesis de bencilo N-[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]metilo]propilo]carbamato, Compuesto 131

[0483]

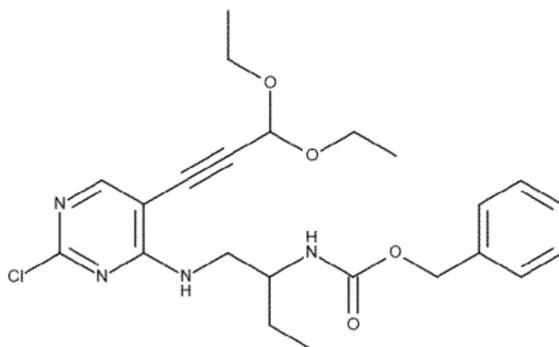


[0484] Bencilo N-[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]metilo]propilo]carbamato se sintetizó tratando 5-bromo-2,4-dicloropirimidina con bencilo N-[1-(aminometilo) propilo]carbamato usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *terc*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) (M + H) 413.

Ejemplo 132

Síntesis de bencilo N-[1-[[[2-cloro-5-(3, 3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]propilo]carbamato, Compuesto 132

[0485]

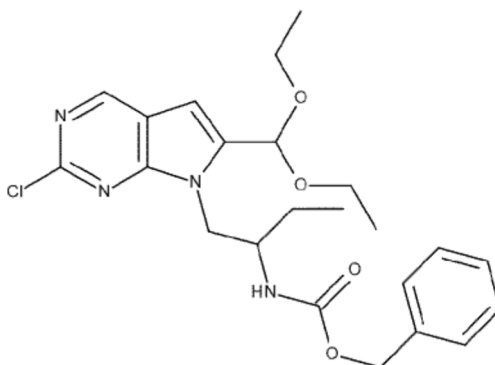


[0486] Bencilo N-[1-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]propilo]carbamato se preparó mediante el tratamiento del bencilo N-[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]metilo]propilo]-carbamato con 3,3-dietoxiprop-1-eno en presencia de un catalizador como Pd/dba usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *terc*-butilo N-[2-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato LCMS (ESI) (M + H) 461.

Ejemplo 133

Síntesis de bencilo N-[1-[[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]metilo]propilo]carbamato, Compuesto 133

[0487]

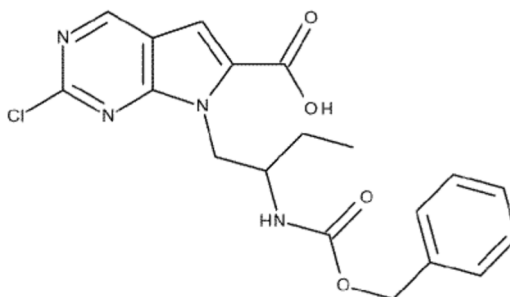


[0488] Bencilo N-[1-[[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]metilo]propilo]carbamato se sintetizó por tratamiento con bencilo N-[1-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]propilo]carbamato con TBAF utilizando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *terc*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3 d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. LCMS (ESI) (M + H) 461.

Ejemplo 134

Síntesis de 7-[2-(benciloxycarbonilamino)butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 134

[0489]

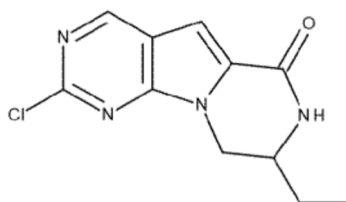


[0490] 7-[2-(benciloxycarbonilamino)butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato fue sintetizado utilizando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de 7-[2-(*terc*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 403 (M + H).

Ejemplo 135

Síntesis del Compuesto 135

[0491]



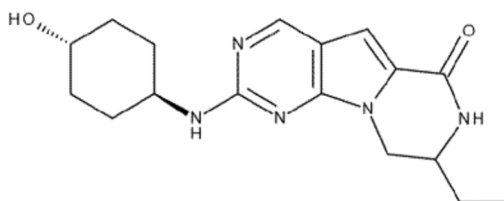
[0492] A una solución de 7-[2-(benciloxycarbonilamino)butilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico en diclorometano se le añadió HBr, la reacción se agitó a 45 grados durante 3 h. Después de la concentración, se añadió

2 N NaOH para basificar (pH = 8,0) la reacción seguida de la adición de THF(20 ml). A continuación se añadió Boc₂O (1,2 eq) y la reacción se agitó durante 16 h. A la mezcla de reacción cruda se le añadió acetato de etilo (100 ml) y agua (50 ml) y la fase orgánica se separó, se secó (sulfato de magnesio) y luego se concentró al vacío. Al producto bruto se le añadió diclorometano (30 ml) seguido de DIC y DMAP. Después de agitar durante 2 h, se añadió TFA y el contenido se agitó durante una hora. Los disolventes se evaporaron al vacío y el residuo se basificó con NaHCO₃ sat.. Luego se añadió acetato de etilo y la capa orgánica se separó, se secó (sulfato de magnesio) y luego se concentró al vacío. La cromatografía en columna con hexano/acetato de etilo (0 - 100%) proporcionó el núcleo clorotricíclico deseado, Compuesto 135. LCMS (ESI) 251 (M + H).

Ejemplo 136

Síntesis del Compuesto 136

[0493]

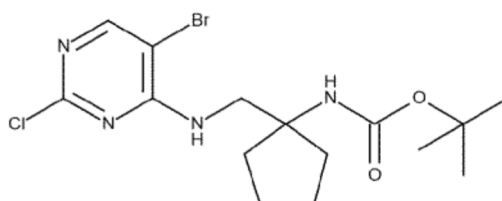


[0494] El Compuesto 136 se sintetizó tratando la amina clorotricíclica, Compuesto 135, con trans-4-aminociclohexanol usando condiciones experimentales similares a las del Compuesto 124. LCMS (ESI) 330 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO d₆) δ ppm 0,80 - 0,95 (m, 3 H) 1,35 -1,92 (m, 10 H) 3,66 (br. M., ³H)₄,17 (br. s., 2 H) 4,47 (br. s., 1 H) 6,85 (s., 1 H) 6,96 (br. s., 1 H) 8,15 (br. s., 1 H) 8,62 (br. s., 1 H).

Ejemplo 137

Síntesis de *tert*-butilo N-[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]metilo]ciclopentilo]carbamato, Compuesto 137

[0495]

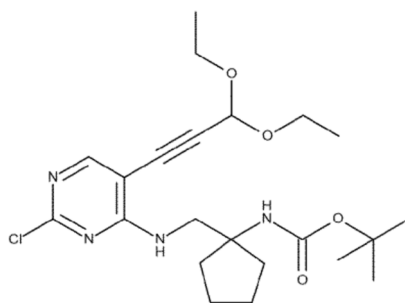


[0496] *tert*-butilo N-[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]metilo]ciclopentilo]carbamato de bencilo se sintetizó mediante el tratamiento de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina con *tert*-butilo N-[1-(aminometilo)ciclopentilo]carbamato utilizando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 405 (M + H).

Ejemplo 138

Síntesis de *tert*-butilo N-[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]ciclopentilo]carbamato, Compuesto 138

[0497]

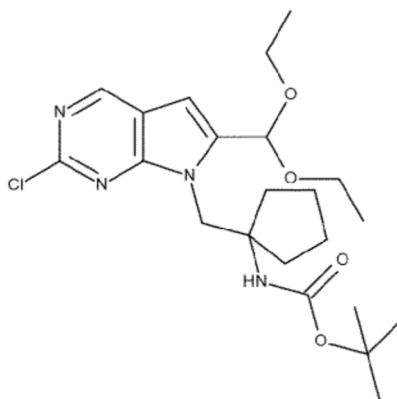


[0498] *tert*-butilo N-[1-[[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]metilo]ciclopentilo]carbamato se sintetizó mediante el tratamiento de *tert*-butilo N-[1-[[[5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo]amino]metilo]ciclopentilo]carbamato con 3,3-dietoxiprop-1-eno en presencia de un catalizador como Pd/dba usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato LCMS (ESI) 453 (M + H).

Ejemplo 139

Síntesis de *tert*-butilo N-[1-[[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]metilo]ciclopentilo]carbamato, Compuesto 139

[0499]

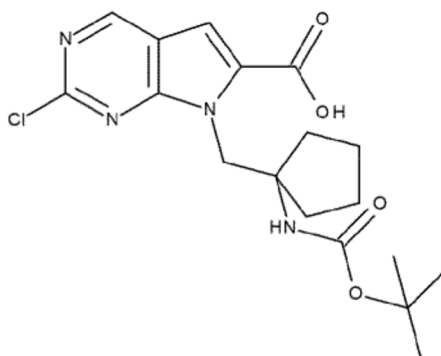


[0500] *tert*-butilo N-[1-[[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]metilo]ciclopentilo]carbamato se sintetizó tratando *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-ilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato con TBAF usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3d] pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 453 (M + H).

Ejemplo 140

Síntesis de ácido 7-[[1-(*tert*-butoxicarbonilamino)ciclopentilo]metilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico, Compuesto 140

[0501]

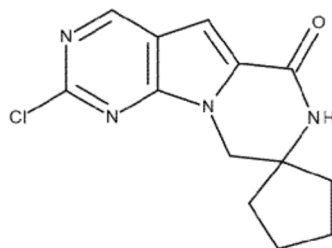


[0502] 7-[[1-(*tert*-butoxicarbonilamino)ciclopentilo]metilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 395 (M + H).

5 Ejemplo 141

Síntesis del Compuesto 141

[0503]

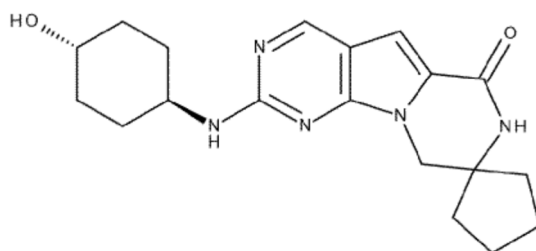


[0504] El Compuesto 141 del núcleo clorotricíclico se sintetizó usando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de amida clorotricíclica. Compuesto 119. LCMS (ESI) 277 (M + H).

Ejemplo 142

Síntesis del Compuesto 142

[0505]

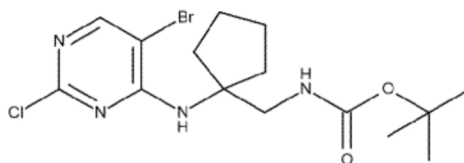


[0506] El Compuesto 142 se sintetizó tratando la amina clorotricíclica, Compuesto 141, con *trans*-4-aminociclohexanol usando condiciones experimentales similares a las del Compuesto 124. LCMS (ESI) 356 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO *d*₆) δ ppm 1,08 -1,32 (m, 8 H) 1,60 - 2,09 (m, 8 H) 3,03 - 3,17 (m, 1 H) 3,35 (s, 2 H) 3,54 - 3,62 (m, 1 H) 4,51 (d, *J* = 4,39 Hz, 1 H) 6,88 (s, 1 H) 6,96 (br. s., 1 H) 8,07 (br. s., 1 H) 8,58 (s, 1 H)

Ejemplo 143

Síntesis de *tert*-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentilo]metilo]carbamato, Compuesto 143

[0507]



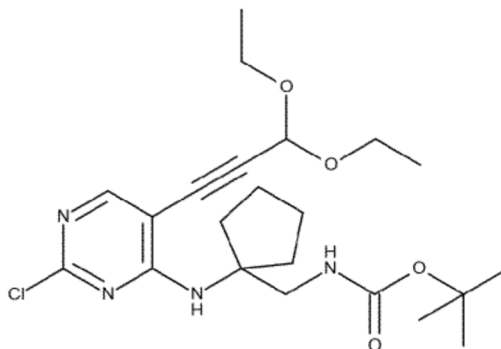
[0508] *tert*-butilo N-[[1-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]ciclopentilo]metilo]carbamato se sintetizó tratando 5-bromo-2,4-dicloropirimidina con *tert*-butilo N-[(1-aminociclopentil)metilo]carbamato usando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *tert*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 405 (M + H).

Ejemplo 144

Síntesis de *terc*-butilo
propilo]carbamato, Compuesto 144

N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-

[0509]



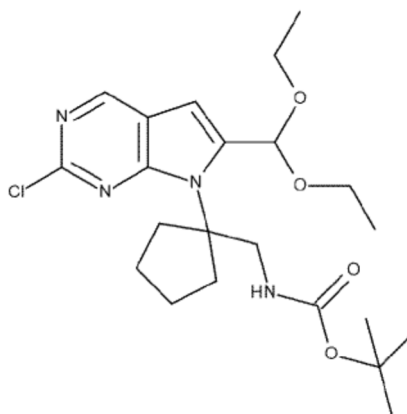
[0510] *terc*-butilo N-[[1-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)]pirimidina-4-ilo]amino]ciclopentilo]metilo]carbamato se sintetizó mediante el tratamiento de *terc*-butilo N-[2-[(5-bromo-2-cloro-pirimidina-4-ilo)amino]-2-metilo-propilo]carbamato con 3,3-dietoxiprop-1-eno en presencia de un catalizador como Pd(PPh₃)₄ utilizando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *terc*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 453 (M + H).

Ejemplo 145

Síntesis de *terc*-butilo
ilo]ciclopentilo]metilo]carbamato, Compuesto 145

N-[[1-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-

[0511]

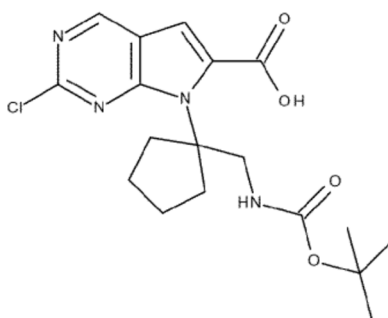


[0512] *terc*-butilo N-[[1-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]ciclopentilo]metilo]carbamato se sintetizó tratando el *terc*-butilo N-[2-[[2-cloro-5-(3,3-dietoxiprop-1-inilo)pirimidina-4-ilo]amino]-2-metilo-propilo]carbamato con TBAF utilizando condiciones experimentales similares a las descritas para la síntesis de *terc*-butilo N-[2-[2-cloro-6-(dietoximetilo)pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo]etilo]carbamato. LCMS (ESI) 4534 (M + H).

Ejemplo 146

Síntesis de 7-[2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1,1-dimetilo-etilo]-2-cloro-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-ácido
carboxílico, Compuesto 146

[0513]

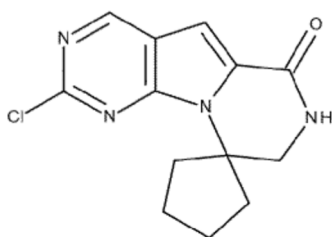


[0514] 7-[2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-1,1-dimethyl-ethyl]-2-cloro-pirrólo[2,3-d]pirimidina-6-ácido carboxílico se sintetizó utilizando un procedimiento experimental similar al descrito para la síntesis de 7-[2-(*tert*-butoxycarbonylamino)etilo]-2-cloro-5-(*o*-tolilo)pirrólo[2,3-d]ácido pirimidina-6-ácido carboxílico. LCMS (ESI) 395 (M + H).

Ejemplo 147

Síntesis del Compuesto 147

[0515]

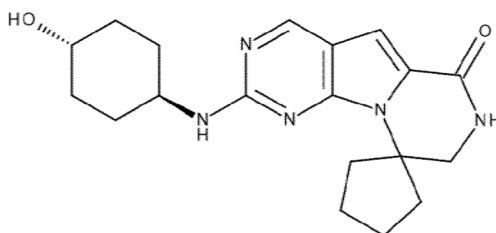


[0516] Amida clorotricíclica, el Compuesto 147 se sintetizó usando un procedimiento experimental similar al descrito para la amida clorotricíclica, Compuesto 119. LCMS (ESI) 277 (M + H).

Ejemplo 148

Síntesis del Compuesto 148

[0517]

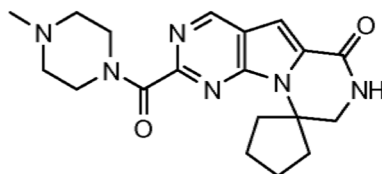


[0518] El Compuesto 148 se sintetizó tratando la amina clorotricíclica, Compuesto 147, con *trans*-4-aminociclohexanol usando condiciones experimentales similares a las del Compuesto 124. LCMS (ESI) 356 (M + H). ¹H RMN (600 MHz, DMSO *d*₆) δ ppm 1,06 -1,35 (m, 8 H) 1,45 -1,95 (m, 8 H) 3,10 (m, 1 H) 3,58 (br. s., 2 H) 3,95 (br. s., 1 H) 4,49 (br. s., 1 H) 6,84 (s, 1 H) 6,85 - 6,93 (m, 1 H) 8,29 (s, 1 H) 8,61 (br. s., 1 H).

Ejemplo 149

Síntesis del Compuesto 149

[0519]



Paso 1: El Compuesto 59 está protegido con Boc de acuerdo con el método de A. Sarkar et al. (JOC, 2011, 76, 7132-7140).

Paso 2: El Compuesto 59 protegido con Boc se trata con 5% en moles de $\text{NiCl}_2(\text{PH}_3)_2$, 0,1 eq trifenílfosfina, 3 eq Mn, 0,1 eq yoduro de tetraetilamonio, en DMI bajo CO_2 (1 atm) a 25°C durante 20°C horas para convertir el derivado de haluro de arilo en el ácido carboxílico.

Paso 3: El ácido carboxílico del Paso 2 se convierte en el cloruro de ácido correspondiente usando condiciones estándar.

Paso 4: El cloruro de ácido del Paso 3 se hace reaccionar con N-metilo piperazina para generar la amida correspondiente.

Paso 5: La amida del Paso 4 se desprotege usando ácido trifluoroacético en cloruro de metileno para generar el Compuesto diana. El Compuesto 149 se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con un gradiente de diclorometano - metanol para proporcionar el Compuesto 149.

[0520] Cada uno de los Compuestos 119 a 149 y los compuestos correspondientes con varias definiciones de R^8 , R^1 y Z pueden hacerse reaccionar con hidruro de sodio y un haluro de alquilo u otro haluro para insertar la sustitución R deseada antes de la reacción con una amina, tal como se describió anteriormente para la síntesis del Compuesto 120, para producir el producto deseado de las Fórmulas I, II, III, IV o V.

Ejemplo 150

Ensayo *in vitro* de inhibición de CDK4/6

[0521] Los compuestos seleccionados descritos en este documento se probaron en ensayos de CDK4/ciclinD1, CDK6/CycD3 CDK2/CycA y CDK2/ciclinE quinasa por Nanosyn (Santa Clara, CA) para determinar su efecto inhibitorio sobre estos CDK. Los ensayos se realizaron usando tecnología de detección de microfluidica quinasa (Plataforma de ensayo Caliper). Los compuestos se probaron en formato de dosis-respuesta de 12 puntos por separado en Km para ATP. La concentración de péptido sustrato de fosfoceptor utilizada fue de 1 μM para todos los ensayos y la estaurosporina se usó como el Compuesto de referencia para todos los ensayos. Los detalles de cada ensayo son como se describe a continuación:

CDK2/CiclinA: concentración de la enzima: 0,2 nM; concentración de ATP: 50 μM ; Tiempo de incubación: 3 h.

CDK2/CiclinE: concentración de la enzima: 0,28 nM; Concentración de ATP: 100 μM ; Tiempo de incubación: 1 hora.

CDK4/CiclinD1: concentración de la enzima: 1 nM; Concentración de ATP: 200 μM ; Tiempo de incubación: 10 h.

CDK6/CiclinD3: concentración de la enzima: 1 nM; Concentración de ATP: 300 μM ; Tiempo de incubación: 3 h.

[0522] Los valores inhibitorios de CI_{50} para los compuestos T, Q, U y GG para CDK4/CycD1, CDK2/CycE, CDK2/CycA, así como la selectividad de pliegue se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Inhibición selectiva de CDK4

Estructura	CDK4/CycD1 CI_{50} [nM]	CDK2/CycE CI_{50} [nM]	Selectividad de plegado (CDK2/CycE/CDK4)	CDK2/CycA CI_{50} [nM]	Selectividad de plegado (CDK2/CycA/CDK4)
Q	0,6	1080	1722	3030	4833
T	0,8	1660	2022	1670	2034
U	0,7	1460	2229	857	1308
GG	1	3580	3377	1510	1425

[0523] Para caracterizar aún más su actividad quinasa, el Compuesto T se cribó contra 456 (395 no mutantes) quinasas usando el servicio de perfilado KINOMEScan™ de DiscoveRx. El Compuesto se cribó usando una concentración única de 1000 nM (> 1000 veces la CI_{50} en Cdk4). Los resultados de este cribado confirmaron la alta potencia contra Cdk4 y la alta selectividad frente a Cdk2. Además, el perfil de kinome mostró que El Compuesto T era relativamente selectivo para Cdk4 y Cdk6 en comparación con las otras quinasas probadas. Específicamente, cuando

se usa un umbral inhibitorio del 65%, 90% o 99%, el Compuesto T inhibió 92 (23,3%), 31 (7,8%) o 6 (1,5%) de 395 quinasas no mutantes, respectivamente.

[0524] Además de la actividad de la quinasa CDK4, también se probaron varios compuestos frente a la actividad de la quinasa CDK6. Los resultados de los ensayos de quinasa CDK6/CycD3, junto con los ensayos de quinasa CDK4/CiclinD1, CDK2/CycA y CDK2/CiclinE, se muestran para PD0332991 (Referencia) y los compuestos T, Q, GG y U en la Tabla 3. El CI_{50} de 10 nM para CDK4/CiclinD1 y 10 μ M para CDK12/CiclinE está de acuerdo con los informes publicados previamente para PD0332991 (Fry et al. Molecular Cancer Therapeutics (2004) 3 (11) 1427-1437; Toogood et al. Journal of Medicinal Chemistry (2005) 48, 2388-2406). Los compuestos T, Q, GG y U son más potentes (CI_{50} inferior) con respecto al compuesto de referencia (PD0332991) y demuestran una mayor selectividad de plegado con respecto al compuesto de referencia (CDK2/CycE CI_{50} dividido por CDK4/CycDI CI_{50}).

Tabla 3: Inhibición de quinasas de CDK por Compuestos T, Q, GG y U

Fórmula	CDK4/CycD1 CI_{50} (nM)	CDK2/CycE CI_{50} (μ M)	Selectividad plegada CDK2/CDK4	CDK2/CycA CI_{50} (μ M)	CDK6/CycD3 CI_{50} (nM)
PD0332991 Referencia	10	10	1000	No determinado	No determinado
Compuesto T	0,821	1,66	2022	1,67	5,64
Compuesto Q	0,627	1,08	1722	3,03	4,38
Compuesto GG	1,060	3,58	3377	1,51	4,70
Compuesto U	0,655	1,46	2229	,857	5,99

Ejemplo 151

Ensayo de detención G1 (fase celular G1 y S)

[0525] Para la determinación de fracciones celulares en diversas etapas del ciclo celular después de diversos tratamientos, las células HS68 (línea celular de fibroblastos de piel humana (Rb-positivo)) se tiñeron con solución de tinción de yoduro de propidio y se ejecuta en citómetro de flujo Dako Cyan. La fracción de células en el ciclo celular de ADN G0-G1 frente a la fracción en el ciclo celular de ADN en fase S se determinó usando el análisis FlowJo 7,2,2.

[0526] Los compuestos T, Q, GG y U fueron probados por su capacidad para detener las células HS68 en la fase G1 del ciclo celular. A partir de los resultados del ensayo de detención en G1 celular, la gama de los valores inhibidores CE_{50} necesarios para la detención G1 de las células HS68 era de 22 nM a 1,500 nM (véase la columna titulada "detención G1 celular CE_{50} " en la Tabla 4).

Ejemplo 152

Detención del ciclo celular por el Compuesto T en células dependientes de Cdk4/6

[0527] Para probar la capacidad de los inhibidores de Cdk4/6 para inducir una detención G1 limpia, se usó un método de detección basado en células que consta de dos dependientes de líneas celulares Cdk4/6 (tHS68 y WM2664; Rb-positivas) y una línea celular independiente de Cdk4/6 (A2058; Rb-negativas). Veinticuatro horas después del enchapado, cada línea celular se trató con el Compuesto T de manera dependiente de la dosis durante 24 horas. Al final del experimento, las células se recolectaron, fijaron y tiñeron con yoduro de propidio (un intercalador de ADN), que fluoresce fuertemente rojo (emisión máxima 637 nm) cuando se excita con 488 nm de luz. Las muestras se procesaron en el citómetro de flujo Dako Cyan y se recogieron > 10.000 eventos para cada muestra. Los datos se analizaron usando el software FlowJo 2,2 desarrollado por TreeStar, Inc.

[0528] FIG. 2B es un gráfico del número de células tHS68 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. FIG. 2C es un gráfico del número de células WM2664 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. FIG. 2D es un gráfico del número de células A2058 (línea celular independiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio). Las células fueron tratadas con DMSO durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. FIG. 2E es un gráfico del número de células tHS68 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el Compuesto T. Las células fueron tratadas con el Compuesto T (300 nM) para 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células tHS68 con el Compuesto T causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha). FIG. 2F es un gráfico del número de células WM2664 (línea celular dependiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las

células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el Compuesto T. Las células se trataron con el Compuesto T (300 nM) durante 24 horas, se cosecharon y se analizaron para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células WM2664 con el Compuesto T causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha). FIG. 2G es un gráfico del número de células A2058 (línea celular independiente de CDK4/6) frente al contenido de ADN de las células (medido por yoduro de propidio) después del tratamiento con el Compuesto T. Las células fueron tratadas con el Compuesto T (300 nM) durante 24 horas, cosechadas y analizadas para la distribución del ciclo celular. Como se describe en el Ejemplo 152, el tratamiento de las células A2058 con el Compuesto T no causa una pérdida del pico de la fase S (indicado por la flecha).

Ejemplo 153

El Compuesto T inhibe la fosforilación de RB

[0529] El complejo CDK4/6ciclina D es esencial para la progresión de G1 a la fase S del ciclo celular de ADN. Este complejo fosforila la proteína supresora de tumores de retinoblastoma (Rb). Para demostrar el impacto de la inhibición de Cdk4/6 en la fosforilación de Rb (pRb), el Compuesto T se expuso a tres líneas celulares, dos dependientes de Cdk4/6 (tHS68, WM2664; Rb-positivo) y uno independiente de Cdk4/6 (A2058; Rb-negativo). Veinticuatro horas después de la siembra, las células se trataron con el Compuesto T a una concentración final de 300 nM durante 4, 8, 16 y 24 horas. Las muestras se lisaron y las proteínas se analizaron mediante análisis de transferencia Western. La fosforilación de Rb se midió en dos sitios seleccionados por el complejo CDK4/6ciclina D, Ser780 y Ser807/811, utilizando anticuerpos específicos de la especie. Los resultados demuestran que el Compuesto T bloquea la fosforilación de Rb en líneas celulares dependientes de Rb 16 horas después de la exposición, mientras que no tiene ningún efecto sobre las células independientes de Rb (Figura 3).

Ejemplo 154

Cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) Las células son resistentes a los inhibidores de CDK4/6

[0530] El supresor tumoral de retinoblastoma (RB) es un importante regulador negativo del ciclo celular que se inactiva en aproximadamente el 11% de todos los cánceres humanos. La pérdida funcional de Rb es un evento obligatorio en el desarrollo del cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC). En los tumores Rb competentes, el Cdk2/4/6 activado promueve el recorrido de la fase G1 a S al fosforilar e inactivar Rb (y miembros de la familia relacionados). Por el contrario, los cánceres con delección o inactivación de Rb no requieren actividad de Cdk4/6 para la progresión del ciclo celular. Dado que la inactivación de Rb es un evento obligatorio en el desarrollo de SCLC, este tipo de tumor es altamente resistente a los inhibidores de Cdk4/6 y la administración conjunta de inhibidores de Cdk4/6 con agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN, como los utilizados en SCLC, NO debería antagonizar la eficacia de tales agentes.

[0531] Varios compuestos (PD0332991, Compuesto GG y Compuesto T) fueron probados por su capacidad para bloquear la proliferación celular en un panel de líneas celulares SCLC con pérdida genética conocida de RB. Las células SCLC se trataron con DMSO o el inhibidor Cdk4/6 indicado durante 24 horas. El efecto de la inhibición de Cdk4/6 sobre la proliferación se midió mediante la incorporación de EdU. Una línea celular RB-intacta, dependiente de Cdk4/6 (WM2664 o tHS68) y un panel de líneas celulares SCB RB-negativas (H69, H82, H209, H345, NCI417 o SHP-77) fueron analizadas por la inhibición del crecimiento. varios inhibidores de CDK4/6.

[0532] Como se muestra en la Figura 4, las células SCLC Rb negativas son resistentes a la inhibición de Cdk4/6. En la Figura 4A, PD0332991 inhibe la línea celular Rb-positiva (WM2664), pero no afecta el crecimiento de las líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas Rb-negativas (H345, H69, H209, SHP-77, NCI417 y H82). En la Figura 4B, el Compuesto GG inhibe la línea celular Rb-positiva (tHS68), pero no afecta el crecimiento de las líneas celulares negativas para Rb (H345, H69, SHP-77 y H82). En la Figura 4C, el Compuesto T inhibe la línea celular positiva para Rb (tHS68), pero no afecta el crecimiento de las líneas celulares negativas para Rb (H69, SHP-77 y H209). Este análisis demostró que las líneas celulares de SCLC RB-nulo eran resistentes a la inhibición de Cdk4/6, ya que no se observaron cambios en el porcentaje de células en fase S tras el tratamiento con ninguno de los inhibidores de Cdk4/6 probados, incluidos el Compuesto T y el Compuesto GG, mientras que la línea celular competente en Rb en cada experimento fue altamente sensible a la inhibición de Cdk4/6 y casi no quedaban células en la fase S después de 24 horas de tratamiento.

Ejemplo 155

Las células cancerosas negativas para Rb son resistentes a los inhibidores de CDK4/6

[0533] Los ensayos de proliferación celular se realizaron usando las siguientes líneas celulares de cáncer negativo para Rb: células H69 (cáncer de pulmón de células pequeñas humanas - negativas para Rb) o A2058 (células de melanoma metastásico humano - negativas para Rb). Estas células fueron sembradas en Costar (Tewksbury, Massachusetts) 3093 placas de 96 pocillos tratadas en cultivo de tejido con paredes blancas/fondo transparente. Las células se trataron con los compuestos T, Q, GG y U como series de dilución de respuesta a dosis de nueve puntos

de 10 μ M a 1 nM. Las células se expusieron a compuestos y luego se determinó la viabilidad celular después de cuatro (H69) o seis (A2058) días como se indica usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (CTG; Promega, Madison, Wisconsin, Estados Unidos de América) después de Las recomendaciones del fabricante. Las placas se leyeron en el lector de placas multimodo Synergy2 de BioTek (Winooski, Vermont). Las Unidades de Luz Relativa (RLU) se trazaron como resultado de una concentración molar variable y los datos se analizaron usando el software estadístico Graphpad (LaJolla, California) Prism 5 para determinar la CE_{50} para cada compuesto.

[0534] Los compuestos seleccionados descritos aquí se evaluaron frente a una línea celular de cáncer de pulmón de células pequeñas (H69) y una línea celular de melanoma metastásico humano (A2058), dos líneas celulares deficientes en Rb (negativas para Rb). Los resultados de estos inhibición celulares ensayos se muestran en la Tabla 4. La gama de los inhibidores CE_{50} valores necesarios para la inhibición de H69 pulmón de células pequeñas células de cáncer era de 2040 nM a > 3000 nM. La gama de los valores inhibidores de CE_{50} necesarios para la inhibición de proliferación de células de melanoma maligno A2058 fue 1,313 nM a > 3000 nM. En contraste con la inhibición significativa observada en las líneas celulares positivas para Rb, se encontró que los compuestos probados no eran significativamente efectivos para inhibir la proliferación de las células de melanoma o cáncer de pulmón de células pequeñas.

Tabla 4: Resistencia de las células cancerosas negativas para Rb a los inhibidores de CDK4/6

Estructura	Detención celular G1 CE_{50} (nM)	H69 Celular CE_{50} [nM]	A2058 Celular CE_{50} [nM]
Q	100	> 3000	2610
T	100	> 3000	> 3000
U	25	> 3000	> 3000
GG	80	2920	2691

Ejemplo 156

Estudios de supresión de crecimiento de HSPC

[0535] El efecto de PD0332991 en HSPC se ha demostrado previamente. La Figura 5 muestra la incorporación de EdU de células HSPC de ratón y células progenitoras mieloides después de una dosis única de 150 mg/kg PD0332991 por sonda oral para evaluar el efecto temporal de la inhibición transitoria de CDK4/6 en el paro de la médula ósea como se informó en Roberts et al. Múltiples funciones de los inhibidores de la quinasa dependiente de ciclina 4/6 en la terapia del cáncer. JCN 2012; 104 (6): 476-487. Como se puede ver en la Figura 5, una dosis oral única de PD0332991 da como resultado una reducción sostenida en HSPC (LKS +) y células progenitoras mieloides (LKS-) durante más de 36 horas. Hasta 48 horas después de la administración oral, las células progenitoras HSPC y mieloides vuelven a la división celular basal.

Ejemplo 157

Proliferación de la médula ósea como se evaluó usando la incorporación de EdU y el análisis de citometría de flujo

[0536] Para los experimentos de proliferación HSPC, se trataron ratones FVB/N hembras adultas jóvenes con una dosis única como se indica del Compuesto T, compuesto Q, compuesto GG o PD0332991 por vía oral. Gavaje. Luego se sacrificaron los ratones en los tiempos indicados (0, 12, 24, 36 o 48 horas después de la administración del compuesto), y se recogió la médula ósea ($n=3$ ratones por punto de tiempo), como se describió previamente (Johnson et al. J. Clin. Invest. (2010) 120 (7), 2528-2536). Cuatro horas antes de la recolección de la médula ósea, los ratones fueron tratados con 100 μ g de EdU mediante inyección intraperitoneal (Invitrogen). Las células mononucleares de la médula ósea se recogieron e inmunofenotiparon usando métodos descritos previamente y luego se determinó el porcentaje de células EdU positivas (Johnson et al. J. Clin. Invest. (2010) 120 (7), 2528-2536). En resumen, los HSPC se identificaron mediante la expresión de marcadores de linaje (Lin-), Sca1 (S+) y c-Kit (K+).

[0537] El análisis en ratones determinó que el Compuesto T, el Compuesto Q y el Compuesto GG demostraron detención de G1 dependiente de la dosis, transitoria y reversible de células madre de médula ósea (HSPC) (Figura 6). Seis ratones por grupo se dosificaron mediante sonda oral a 150 mg/kg de Compuesto T, Compuesto Q, Compuesto GG o vehículo solamente. Cuatro horas antes de que se sacrificaran los animales y se cosechara la médula ósea, los ratones se trataron con 100 μ g de EdU mediante inyección intraperitoneal. Se sacrificaron tres ratones por grupo a las 12 horas y los tres animales restantes por grupo se sacrificaron a las 24 horas. Los resultados se muestran en la Figura 6A como la proporción de células EdU positivas para animales tratados en puntos de tiempo de 12 o 24 horas en comparación con el control. Los compuestos T y GG demostraron una reducción en la incorporación de EdU a las 12 horas que comenzaba a volver a la normalidad a las 24 horas. El Compuesto Q también demostró cierta reducción a las 12 horas y comenzó a volver a la línea de base a las 24 horas a pesar del hecho de que la biodisponibilidad oral del Compuesto Q es baja.

[0538] Se completaron experimentos adicionales con el Compuesto T que examinó la respuesta a la dosis y períodos más largos de tratamiento compuesto. El Compuesto T se dosificó por sonda oral a 50, 100 o 150 mg/kg y la incorporación de EdU en la médula ósea se determinó a las 12 y 24 horas como se describió anteriormente. Alternativamente, el Compuesto T se dosificó por sonda oral a 150 mg/kg y la incorporación de EdU en la médula ósea se determinó a las 12, 24, 36 y 48 horas. Como se puede ver en las Figuras 6B y 5C, y de manera similar a los experimentos de lavado celular, las células de la médula ósea, y en particular las HSPC, estaban volviendo a la división celular normal según lo determinado por la incorporación de EdU en 24 horas después de la sonda oral en varias dosis. La dosis oral de 150 mg/kg de Compuesto T en la Figura 6C se puede comparar directamente con los resultados de la misma dosis de PD0332991 que se muestra en la Figura 5 donde las células todavía no se dividían (según lo determinado por la baja incorporación de EdU) a las 24 y 36 horas, solo volviendo a los valores normales a las 48 horas.

Ejemplo 158

Estudios de supresión de crecimiento de HSPC que comparan el Compuesto T y PD0332991

[0539] La Figura 7 es un gráfico del porcentaje de células HSPC positivas para EdU para ratones tratados con PD0332991 (triángulos) o compuesto T (triángulos invertidos) v. tiempo después de la administración (horas) del compuesto. Ambos compuestos se administraron a 150 mg/kg por sonda oral. Una hora antes de la cosecha de médula ósea, se inyectó EdU en IP para marcar las células en ciclo. La médula ósea se cosechó a las 12, 24, 36 y 48 horas después del tratamiento compuesto y se determinó el porcentaje de células HSPC positivas para EdU en cada punto de tiempo.

[0540] Como se ve en la Figura 7, una dosis oral única de PD0332991 da como resultado una reducción sostenida de HSPC durante más de 36 horas. Por el contrario, una dosis oral única del Compuesto T da como resultado una reducción inicial de la proliferación de HSPC a las 12 horas, pero la proliferación de HSPC se reanuda 24 horas después de la dosificación del Compuesto T.

Ejemplo 159

Experimento de lavado celular

[0541] Se sembraron células HS68 a 40.000 células/pocillo en un plato de 60 mm el día 1 en DMEM que contiene 10% de suero fetal bovino, 100 U/ml de penicilina/estreptomicina y 1x Glutamax (Invitrogen) como se describe (Brookes et al. EMBO J, 21 (12) 2936- 2945 (2002) y Ruas y col., Mol Cell Biol, 27 (12) 4273-4282 (2007)). 24 horas después de la siembra, las células se tratan con compuesto T, compuesto Q, compuesto GG, compuesto U, PD0332991 o vehículo DMSO solo a una concentración final de 300 nM de compuestos de prueba. En el día 3, se recogió un conjunto de muestras de células tratadas por triplicado (muestra de 0 horas). Las células restantes se lavaron dos veces en PBS-CMF y se devolvieron al medio de cultivo que carecía del Compuesto de prueba. Se recogieron conjuntos de muestras por triplicado a las 24, 40 y 48 horas.

[0542] Alternativamente, el mismo experimento se realizó utilizando células epiteliales del túbulo proximal renal normales (positivas para Rb) obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Las células se cultivaron en una incubadora a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en medio basal de células epiteliales renales (ATCC) suplementado con el kit de crecimiento de células epiteliales renales (ATCC) en incubadora humidificada a 37°C.

[0543] Tras la recolección de las células, las muestras se tiñeron con solución de tinción con yoduro de propidio y las muestras se procesaron en un citómetro de flujo Dako Cyan. La fracción de células en el ciclo celular de ADN G0-G1 frente a la fracción en el ciclo celular de ADN en fase S se determinó usando el análisis FlowJo 7.2.2.

[0544] La Figura 8 muestra experimentos de lavado celular que demuestran que los compuestos inhibidores de la presente invención tienen un breve efecto transitorio de detención de G1 en diferentes tipos de células. Los compuestos T, Q, GG y U se compararon con PD0332991 en células de fibroblastos humanos (positivas para Rb) (Figuras 8A y 8B) o células epiteliales del túbulo proximal renal humano (positivas para Rb) (Figuras 8C y 8D) y El efecto sobre el ciclo celular después del lavado de los compuestos se determinó a las 24, 36, 40 y 48 horas.

[0545] Como se muestra en la Figura 8 y similar a los resultados *in vivo* como se muestra en la Figura 5, PD0332991 requirió más de 48 horas después del lavado para que las células volvieran a la división celular normal de referencia. Esto se ve en la Figura 8A y la Figura 8B como valores equivalentes a los del control DMSO para la fracción G0-G1 o la fase S de la división celular, respectivamente, se obtuvieron. Por el contrario, las células HS68 tratadas con los compuestos de la presente invención volvieron a la división celular normal de referencia en tan solo 24 horas o 40 horas, distintas de PD0332991 en estos mismos puntos de tiempo. Los resultados usando células epiteliales del túbulo proximal renal humano (Figuras 8C y 8D) también muestran que las células tratadas con PD0332991 tardaron significativamente más en volver a los niveles basales de división celular en comparación con las células tratadas con los compuestos T, Q, GG o U.

Ejemplo 160**Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los inhibidores de CDK4/6**

[0546] Los compuestos de la presente invención demuestran buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Los compuestos T, Q, GG y U se dosificaron a ratones a 30 mg/kg por sonda oral o 10 mg/kg por inyección intravenosa. Se tomaron muestras de sangre a las 0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 y 8,0 horas después de la dosificación y la concentración plasmática del Compuesto T, Q, GG o U se determinó por HPLC. Se demostró que los compuestos T, GG y U tienen excelentes propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas orales como se muestra en la Tabla 5. Esto incluye una biodisponibilidad oral muy alta (F (%)) de 52% a 80% y una vida media plasmática de 3 a 5 horas después de la administración oral. Se demostró que los compuestos T, Q, GG y U tienen excelentes propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas cuando se administran por administración intravenosa. En la Figura 9 se muestran curvas de PK IV y oral representativas para los cuatro compuestos.

Tabla 5: Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los inhibidores de CDK4/6

Ratón PK	Compuesto T	Compuesto Q	Compuesto GG	Compuesto U
CL (ml/min/kg)	35	44	82	52
Vss (L/kg)	2,7	5,2	7,5	3,4
t _{1/2} (h) po	5,5	0,8	3,5	3
AUC _{0-inf} (uM·h) i.v.	1,3	0,95	1,1	0,76
AUC(uM·h) p.o.	2,9	0,15	1,9	3,3
C _{max} (uM) p.o.	2,5	0,16	1,9	4,2
T _{max} (h) p.o.	1	0,5	1	0,5
F (%)	80	2	52	67

Ejemplo 161**Estabilidad metabólica**

[0547] La estabilidad metabólica del Compuesto T en comparación con PD0332991 se determinó en microsomas hepáticos de humanos, perros, ratas, monos y ratones. Se compraron microsomas de hígado humano, de ratón y de perro de Xenotech, y Absorption Systems preparó microsomas de hígado de rata Sprague-Dawley. Se preparó la mezcla de reacción que comprende 0,5 mg/ml de microsomas hepáticos, 100 mM de fosfato de potasio, pH 7,4, cloruro de magnesio 5 mM y 1 uM de compuesto de prueba. El Compuesto de prueba se añadió a la mezcla de reacción a una concentración final de 1 uM. Una parte alícuota de la mezcla de reacción (sin cofactor) se incubó en un baño de agua con agitación a 37 grados. Cpor 3 minutos. El Compuesto de control, testosterona, se ejecutó simultáneamente con el Compuesto de prueba en una reacción separada. La reacción se inició mediante la adición de cofactor (NADPH), y la mezcla se incubó luego en un baño de agua con agitación a 37 grados C. Se extrajeron alícuotas (100 ml) a los 0, 10, 20, 30 y 60 minutos para el Compuesto de prueba y a los 0, 10, 30 y 60 minutos para la testosterona. Las muestras del Compuesto de prueba se combinaron inmediatamente con 100 ml de acetonitrilo helado que contenía el patrón interno para terminar la reacción. Las muestras de testosterona se combinaron inmediatamente con 800 ml de acetonitrilo 50/50 helado/dH₂O que contenía ácido fórmico al 0,1% y patrón interno para terminar la reacción. Las muestras se analizaron utilizando un método validado de LC-MS/MS. Las muestras del Compuesto de prueba se analizaron usando el espectrómetro de masas de alta resolución Orbitrap para cuantificar la desaparición del Compuesto de prueba original y detectar la aparición de metabolitos. La relación de respuesta de área de pico (PARR) con el estándar interno se comparó con la PARR en el tiempo 0 para determinar el porcentaje de compuesto de prueba o control positivo que queda en el punto de tiempo. Las vidas medias se calcularon utilizando el software GraphPad, ajustándose a una ecuación de decaimiento exponencial monofásico.

[0548] La vida media se calculó en base a $t_{1/2} = 0,693/k$, donde k es la tasa de eliminación constante basada en la gráfica de pendiente del porcentaje de logaritmo natural restante frente al tiempo de incubación. Cuando la vida media calculada fue mayor que la duración del experimento, la vida media se expresó como > el tiempo de incubación más largo. La vida media calculada también figura entre paréntesis. Si la vida media calculada es > 2 veces la duración del experimento, no se informó la vida media. La reanudación oportuna de la proliferación celular es necesaria para la reparación del tejido y, por lo tanto, no es deseable un período de detención excesivamente largo en células sanas como las HSPC. Las características de un inhibidor de CDK4/6 que dictan su duración de detención son sus semividas farmacocinéticas (PK) y enzimáticas. Una vez iniciado, se mantendrá una detención de G1 in vivo mientras el Compuesto circulante permanezca a un nivel inhibitorio y mientras el Compuesto se enganche con la enzima. PD0332991, p. ej., posee una vida media de PK larga en general y una tasa enzimática bastante lenta. En humanos, PD0332991 exhibe una semivida PK de 27 horas (ver Schwartz, GK et al. (2011) BJC, 104: 1862-1868). En humanos, una sola administración de PD0332991 produce una detención del ciclo celular de HSPC que dura aproximadamente una semana. Esto refleja los 6 días para eliminar El Compuesto (5 vidas medias x 27 horas de vida media), así como 1,5 A² días adicionales de inhibición de la función enzimática CDK4/6. Este cálculo sugiere que la recuperación normal

de la médula ósea demora más de 7 días, tiempo durante el cual se reduce la producción de sangre nueva. Estas observaciones pueden explicar la granulocitopenia grave observada con PD0332991 en la clínica.

[0549] Se completaron experimentos adicionales con el Compuesto T y PD0332991 para comparar la estabilidad metabólica (semivida) en microsomas hepáticos de humanos, perros, ratas, monos y ratones. Como se muestra en la Figura 10, cuando se analiza la estabilidad de los compuestos en los microsomas hepáticos entre especies, la vida media determinable del Compuesto T es más corta en cada especie en comparación con la informada para PD0332991. Además, como se describió anteriormente en la Figura 8, parece que PD0332991 también tiene una vida media enzimática extendida, como lo demuestra la producción de un pronunciado arresto del ciclo celular en células humanas que dura más de cuarenta horas incluso después de que el Compuesto se retira del medio de cultivo celular (es decir, en un experimento de lavado *in vitro*). Como se muestra adicionalmente en la Figura 8, la eliminación de los compuestos descritos en el presente documento de los medios de cultivo conduce a una rápida reanudación de la proliferación, consistente con una rápida tasa de desactivación enzimática. Estas diferencias en las tasas de desactivación enzimática se traducen en una marcada diferencia en el efecto farmacodinámico (PD), como se muestra en las Figuras 5, 6C y 7. Como se muestra, una dosis oral única de PD0332991 produce una detención del crecimiento de más de 36 horas del tallo hematopoyético y el progenitor células (HSPC) en la médula ósea murina, que es mayor de lo que se explicaría por la semivida PK de 6 horas de PD0332991 en ratones. En contraste, el efecto del Compuesto T es mucho más corto, permitiendo un rápido reingreso en el ciclo celular, proporcionando un control exquisito *in vivo* de la proliferación de HSPC.

Ejemplo 162

El Compuesto T previene la muerte celular inducida por la quimioterapia, el daño del ADN y la activación de la caspasa

[0550] Para demostrar que la quiescencia farmacológica inducida por el tratamiento del Compuesto T proporciona resistencia a los agentes quimioterapéuticos con diferentes mecanismos de acción, se desarrolló un modelo *in vitro* utilizando fibroblastos diploides humanos telomerizados (tHDF; una línea de fibroblastos de prepucio humano inmortalizado con expresión de telomerasa humana). Estas células son altamente dependientes de Cdk4/6 para la proliferación, como lo demuestra su detención completa de G1 después del tratamiento con inhibidores de Cdk4/6 (Ver Roberts PJ, et al. Multiple Roles of Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors in Cancer Therapy. J Natl Cancer Inst 2012;Mar 21;104(6): 476-87). La supervivencia celular se determinó mediante el ensayo Cell TiterGlo según las recomendaciones del fabricante. Para ambos ensayos de γ -H2AX y caspasa 3/7, las células se colocaron en placas y se dejaron adherir durante 24 horas. Luego, las células se trataron con el Compuesto T (a las concentraciones indicadas) o el control del vehículo durante 16 horas, momento en el cual se añadió la quimioterapia indicada a las células pretratadas. Para γ -H2AX, las células se cosecharon para el análisis 8 horas después de la exposición a la quimioterapia. Para el ensayo γ -H2AX, las células se fijaron, se permeabilizaron y se tiñeron con anti- γ -H2AX según el kit de flujo γ -H2AX (Millipore) y se cuantificaron por citometría de flujo. Los datos se analizaron usando el software FlowJo 2,2 desarrollado por TreeStar, Inc. Para el ensayo *in vitro* de caspasa 3/7, las células se cosecharon 24 horas después del tratamiento de quimioterapia. La activación de Caspase 3/7 se midió utilizando el sistema de ensayo Caspase-Glo® 3/7 (Promega) según las recomendaciones del fabricante.

[0551] Como se muestra en la Figura 11, el Compuesto T proporciona protección selectiva contra la muerte celular inducida por carboplatino y etopósido. El tratamiento de fibroblastos humanos tHS68 con concentraciones crecientes de Compuesto T en presencia de etopósido (5 μ M; Figura 11A) o carboplatino (100 μ M; Figura 11B) induce selectivamente una supervivencia celular dependiente de la dosis determinada por Cell TiterGlo.

[0552] Tratamiento con el Compuesto T antes del tratamiento con varios agentes que dañan el ADN (p. ej., carboplatino, doxorubicina, etopósido, camptotecina) o un daño de ADN atenuado antimitótico (paclitaxel) medido por la formación de γ -H2AX (Figura 12A). Además, el tratamiento de las células tHDF con el Compuesto T antes de la exposición a carboplatino, doxorubicina, etopósido, camptotecina y paclitaxel provocó una disminución robusta en la activación de caspasa 3/7 de una manera dependiente de la dosis (Figura 12B). Estos datos muestran que una detención transitoria del ciclo celular en G1, inducida por la inhibición de Cdk4/6, disminuye la toxicidad de una variedad de agentes quimioterapéuticos citotóxicos de uso común asociados con mielosupresión en células sensibles a Cdk4/6.

Ejemplo 163

El Compuesto T inhibe la proliferación de células madre hematopoyéticas y/o células progenitoras (HSPC)

[0553] Para caracterizar los efectos del tratamiento del Compuesto T sobre la proliferación de las diferentes células hematopoyéticas de ratón, se les dio a ratones^{c57B1/6} hembra de 8 semanas de edad un ratón. dosis única de vehículo solo (20% Solutol) o Compuesto T (150 mg/kg) por sonda oral. Diez horas después, todos los ratones recibieron una inyección i.p. única de 100 mcg EdU (5-etinilo-2'-desoxi uridina) para marcar las células en S-fase del ciclo celular. Todos los ratones tratados fueron sacrificados 2 horas después de la inyección de EdU, las células de médula ósea se cosecharon y procesaron para el análisis de citometría de flujo de la incorporación de EdU (Figura 13).

[0554] En la Figura 13, las gráficas de contorno representativas muestran proliferación en WBM (médula ósea completa; arriba) y HSPC (células madre hematopoyéticas y células progenitoras; LSK; abajo), medido por la incorporación de EdU para células sin tratamiento, solo tratamiento con EdU, o tratamiento con EdU más compuesto T. Se descubrió que el Compuesto T reduce la proliferación de la médula ósea completa y las células progenitoras y hematopoyéticas.

[0555] En comparación con los ratones tratados con vehículo, los ratones tratados con compuesto T mostró significativamente menos células EdU-positivas (EdU⁺) en todos los linajes hematopoyéticos analizados. La reducción en la frecuencia celular de EdU⁺ se debe probablemente a la entrada reducida de la fase S, que es consistente con el hecho de que el Compuesto T inhibe de manera potente la actividad de Cdk4/6. En general, el tratamiento con Compuesto T causó una reducción de ~ 70% de la frecuencia celular de EdU⁺ en células de médula ósea entera no fraccionadas (ver Figura 13 y Figura 14). En las células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPC), el tratamiento con Compuesto T resultó en una potente detención del ciclo celular de las células madre hematopoyéticas (HSC, inhibición del 74%), las células más primitivas en toda la jerarquía de linaje hematopoyético, así como los progenitores multipotentes (MPP, 90% de inhibición), la progenie aguas abajo inmediata de HSC (Figura 14A).

[0556] Como se muestra en la Figura 14B, más abajo en la jerarquía de diferenciación del linaje, el Compuesto T también inhibió significativamente la proliferación de los mieloides restringidos al linaje (CMP, GMP y MEP) y los progenitores linfoides (CLP), mostrando entre un 76-92% reducción en la frecuencia celular de EdU⁺.

Ejemplo 164

El Compuesto T inhibe la proliferación de células hematopoyéticas diferenciadas

[0557] Usando el mismo protocolo experimental que se discutió en el Ejemplo X anterior y mostrado en las Figuras 13 y 14, se investigaron los efectos del Compuesto T sobre la proliferación de células hematopoyéticas diferenciadas. El efecto resultante del Compuesto T en células hematopoyéticas diferenciadas fue más variable que el observado en HSPC. Mientras que los progenitores de células T y B son altamente sensibles al Compuesto T (> 99% y > 80% de reducción en las frecuencias de células EdU⁺ respectivamente), la proliferación de células mieloides diferenciadas es más resistente al Compuesto T, con las células mieloides Mac1⁺ + G1⁺ mostrando 46 % de reducción en EdU⁺ frecuencia de células, y Ter119⁺ células eritroides que muestran la reducción de 58% en EdU⁺ frecuencia de células (Figura 15). Juntos, estos datos sugieren que, si bien todas las células hematopoyéticas son sensibles a la detención del ciclo celular inducida por el Compuesto T, el grado de inhibición varía entre los diferentes linajes celulares, y las células mieloides muestran un efecto más pequeño del Compuesto T sobre la proliferación celular que el observado en los otros linajes de células.

Ejemplo 165

El Compuesto GG protege los progenitores de la médula ósea

[0558] Para evaluar el efecto de la inhibición transitoria de CDK4/6 por el Compuesto GG sobre la citotoxicidad inducida por carboplatino en la médula ósea, se trataron ratones FVB/n (n= 3 por grupo) con control de vehículo., 90 mg/kg de carboplatino por inyección intraperitoneal, o 150 mg/kg de Compuesto GG por sonda oral más 90 mg/kg de carboplatino por inyección intraperitoneal. 24 horas después del tratamiento, se recolectó la médula ósea y se midió el porcentaje de ciclos de progenitores de médula ósea mediante la incorporación de EdU como se explicó anteriormente. Como se muestra en la Figura 16, la administración del Compuesto GG al mismo tiempo que la administración de carboplatino da como resultado una protección significativa de los progenitores de médula ósea. La incorporación de EdU en animales de control se normalizó al 100% y se comparó con la incorporación de EdU para la médula ósea de animales tratados con carboplatino o animales tratados con carboplatino y compuesto GG.

Ejemplo 166

El Compuesto T disminuye la mielosupresión inducida por 5FU

[0559] Para determinar la capacidad del Compuesto T para modular la mielosupresión inducida por quimioterapia, se utilizó un régimen bien caracterizado de dosis única de 5-fluorouracilo (5FU), conocido por ser altamente mielosupresor en ratones. Los ratones hembra FVB/n recibieron dosis orales únicas de vehículo o Compuesto T a 150 mg/kg, seguidas 30 minutos después por una dosis intraperitoneal única de 5FU a 150 mg/kg. Se midieron los recuentos completos de células sanguíneas cada dos días a partir del día seis.

[0560] La administración conjunta del Compuesto T impactó positivamente la recuperación de todos los linajes hematopoyéticos de mielosupresión inducida por 5-FU. La Figura 17 demuestra el curso temporal de la recuperación de diferentes tipos de células sanguíneas en ratones tratados con Compuesto T o control de vehículo antes de la administración de 5FU. Se determinó que en cada linaje de células hematopoyéticas analizadas (células sanguíneas enteras, neutrófilos, linfocitos, plaquetas y glóbulos rojos), el Compuesto T proporcionó una recuperación más rápida

de las células tratadas solo con 5FU. Estos datos muestran que el tratamiento con Compuesto T probablemente disminuye el daño al ADN inducido por 5FU en HSPC, lo que lleva a una recuperación acelerada del recuento sanguíneo después de la quimioterapia.

[0561] La Figura 18 muestra los datos del día 14 de los estudios de mielosupresión descritos anteriormente y mostrados en la Figura 17. Los recuentos de células sanguíneas completas se analizaron el día 14. La Figura 18 muestra los resultados para glóbulos blancos (Figura 18A), neutrófilos (Figura 18B), linfocitos (Figura 18C), glóbulos rojos (Figura 18D) y plaquetas (Figura 18E). En todos los casos, el Compuesto T cuando se administró con 5FU resultó en una protección significativa de cada tipo de célula en el día 14 en comparación con el efecto mielosupresor del tratamiento con 5FU solo.

Ejemplo 167

El Compuesto T disminuye la mielosupresión inducida por 5FU a través de ciclos repetidos de tratamiento con 5FU

[0562] Para determinar la capacidad del Compuesto T para modular la mielosupresión inducida por quimioterapia, un régimen bien caracterizado de 5-fluorouracilo (5FU), conocido por ser altamente mielosupresor en ratones fue utilizado a ratones C57B1/6 hembra de 8 semanas de edad se les administró una dosis oral única de vehículo (20% de Solutol) o Compuesto T a 150 mg/kg seguido 30 minutos después de una dosis intraperitoneal de 5FU a 150 mg/kg. Esto se repitió cada 21 días durante 3 ciclos. Se tomaron muestras de sangre para análisis hematológicos el día 10 de los ciclos 1-3. La administración conjunta del Compuesto T redujo la mielosupresión el día 10 del tercer ciclo (Figura 19), así como otros ciclos (datos no mostrados). De acuerdo con el estudio de dosis única descrito anteriormente, estos datos muestran que el tratamiento con Compuesto T probablemente disminuye el daño al ADN inducido por 5FU en HSPC, lo que conduce a un mejor recuento de células sanguíneas hematopoyéticas.

Ejemplo 168

Análisis del ciclo celular de ADN en células del túbulo proximal renal humano

[0564] Para probar la capacidad de los inhibidores de Cdk4/6 para inducir un arresto G1 limpio en células no hematopoyéticas, se examinó el arresto G1 en células del túbulo proximal renal humano. Las células fueron tratadas con el Compuesto T de una manera dependiente de la dosis durante 24 horas. Al final del experimento, las células se recolectaron, fijaron y tiñeron con yoduro de propidio (un intercalador de ADN), que fluoresce fuertemente rojo (emisión máxima 637 nm) cuando se excita con 488 nm de luz. Las muestras se corrieron en citómetro de flujo Dako Cyan. Los datos se analizaron usando el software FlowJo 2.2 desarrollado por TreeStar, Inc. Los ensayos se realizaron por triplicado y las barras de error no fueron detectables. Como se ve en la Figura 20, los resultados muestran que el Compuesto T induce una detención robusta del ciclo celular G1 en células del túbulo proximal renal humano, ya que casi todas las células se encuentran en la fase G0-G1 tras el tratamiento con cantidades crecientes de Compuesto T.

Ejemplo 169

El Compuesto T protege las células epiteliales del túbulo proximal renal del daño del ADN inducido por la quimioterapia

[0565] La capacidad de los inhibidores Cdk4/6 para proteger las células del túbulo proximal renal humano del daño del ADN inducido por la quimioterapia se analizó utilizando etopósido y cisplatino. Las células se trataron con el Compuesto T de una manera dependiente de la dosis (10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM o 1000 nM). Al final del experimento, las células se recolectaron, fijaron y tiñeron con yoduro de propidio (un intercalador de ADN), que fluoresce fuertemente rojo (emisión máxima 637 nm) cuando se excita con 488 nm de luz. Las muestras se corrieron en citómetro de flujo Dako Cyan. Los datos se analizaron usando el software FlowJo 2.2 desarrollado por TreeStar, Inc. Como se ve en la Figura 21, los resultados muestran que el Compuesto T protege las células epiteliales del túbulo proximal renal del daño del ADN inducido por la quimioterapia, ya que las dosis crecientes de Compuesto T en combinación con etopósido o cisplatino causan disminución en el porcentaje de células en fase S, con un aumento correspondiente en el porcentaje de células en la fase G0-G1.

Ejemplo 170

El Compuesto T previene el daño del ADN inducido por la quimioterapia y la activación de la caspasa en las células del túbulo proximal renal humano

[0566] Con el fin de demostrar que la quiescencia farmacológica inducida por el tratamiento con inhibidor de CDK4/6 proporciona resistencia a los agentes quimioterapéuticos en células no hematopoyéticas, el efecto protector del Compuesto T en células del túbulo proximal renal humano se analizó. Las células epiteliales del túbulo proximal renal normal se obtuvieron de American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Las células se cultivaron en una incubadora a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en medio basal de células epiteliales renales (ATCC)

suplementado con el kit de crecimiento de células epiteliales renales (ATCC) en incubadora humidificada a 37°C. Las células fueron tratadas con DMSO o 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM o 1 µM de Compuesto T en la ausencia o presencia de cisplatino 25 µM. Para el ensayo γ-H2AX, las células se fijaron, se permeabilizaron y se tiñeron con anti-γ-H2AX según el kit de flujo γ-H2AX (Millipore) y se cuantificaron por citometría de flujo. Los datos se analizaron usando el software FlowJo 2,2 desarrollado por TreeStar, Inc. La activación de Caspasa 3/7 se midió usando el sistema de ensayo Caspasa-Glo 3/7 (Promega, Madison, WI) siguiendo las instrucciones del fabricante.

[0567] El tratamiento de las células del túbulo proximal renal con el Compuesto T en combinación con cisplatino atenuó el daño del ADN medido por la formación de γ-H2AX (Figura 22). Como se ve en la Figura 22, el daño en el ADN causado por el cisplatino disminuyó de manera dependiente de la dosis después del tratamiento con el Compuesto T.

[0568] También fue investigada la capacidad del Compuesto T para proteger las células epiteliales del túbulo proximal renal contra la apoptosis inducida por cisplatino (activación de caspasa 3/7). Como se muestra en la Figura 23, el Compuesto T demostró una reducción dependiente de la dosis en la activación de caspasa 3/7 en estas células. Esta reducción en la actividad de caspasa 3/7 se observó en los tres niveles de cisplatino probados (25 µM, 50 µM o 100 µM). Estos datos muestran que una detención transitoria del ciclo celular en G1, inducida por la inhibición de Cdk4/6, puede proteger las células del túbulo proximal renal del daño del ADN inducido por la quimioterapia.

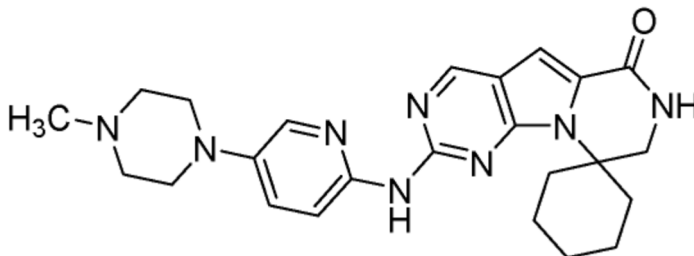
Ejemplo 171

Preparación del producto farmacológico

[0569] Los compuestos activos de la presente invención pueden prepararse para administración intravenosa usando el siguiente procedimiento. Los excipientes hidroxipropilo-beta-ciclodextrina y dextrosa se pueden agregar al 90% del volumen del lote de agua estéril para inyección o riego USP con agitación; revuelva hasta que se disuelva. El Compuesto activo en la forma de sal de hidrocloreto se agrega y se agita hasta que se disuelve. El pH se ajusta con IN NaOH a pH 4,3 + 0,1 y se puede usar IN HCl para valorar de nuevo si es necesario. Se puede usar agua estéril para inyección o riego USP para llevar la solución al peso final del lote. Luego se vuelve a verificar el pH para asegurar que el pH sea pH 4,3 + 0,1. Si el pH está fuera del rango, se agrega IN HCl o IN NaOH según corresponda para llevar el pH a 4,3 + 0,1. La solución se filtra a continuación de forma estéril para llenar viales de vidrio de sílex de 50 o 100 ml, se taponan y se prensa.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en un método para reducir el efecto de la quimioterapia en células sanas en un sujeto que está siendo tratado para cáncer independiente de replicación de quinasa 4/6 dependiente de ciclina (CDK4/6) o proliferación celular anormal, en donde dichas células sanas son células madre hematopoyéticas, células progenitoras hematopoyéticas o células epiteliales renales, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del compuesto.

2. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra al sujeto antes del tratamiento con un agente quimioterapéutico, durante el tratamiento con un agente quimioterapéutico, después de la exposición a un agente quimioterapéutico, o una combinación de los mismos.

3. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde el sujeto es un ser humano.

4. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el compuesto o sal se administra al sujeto 24 horas o menos antes de la exposición a al menos un agente quimioterapéutico.

5. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sujeto tiene cáncer.

6. El compuesto o sal para uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sujeto tiene una proliferación celular anormal.

7. El compuesto o sal, para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el compuesto o sal se administra al sujeto aproximadamente 4 horas o menos antes de la exposición a al menos un agente quimioterapéutico.

8. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el cáncer o la proliferación celular anormal se **caracteriza por** una pérdida o ausencia de la proteína supresora de tumores (RB) de retinoblastoma.

9. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el cáncer es cáncer de pulmón de células pequeñas, retinoblastoma, cáncer de mama triple negativo, cáncer positivo de cabeza y cuello del virus del papiloma humano (VPH), cáncer cervical positivo para VPH, o cáncer de vejiga Rb negativo.

10. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la quimioterapia se selecciona de un agente alquilante, intercalador de ADN, inhibidor de síntesis de proteínas, inhibidor de síntesis de ADN o ARN, análogo de base de ADN, inhibidor de topoisomerasa, inhibidor de telomerasa o compuesto de unión al ADN telomérico.

11. El compuesto o sal para usar de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el cáncer es carcinoma de pulmón de células pequeñas y el al menos un agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en etopósido, cisplatino o carboplatino, o una combinación de los mismos.

12. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde al menos el 80% o más de las células madre hematopoyéticas, las células progenitoras hematopoyéticas o las células epiteliales renales en el sujeto regresan o se aproximan a la línea base previa al tratamiento actividad del ciclo celular en menos de aproximadamente 36 horas desde la última administración del compuesto en humanos.

13. El compuesto o la sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la disipación del efecto inhibidor de CDK4/6 del compuesto o la sal se produce en menos de 36 horas desde la administración del compuesto.

14. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el al menos un agente quimioterapéutico es etopósido.

15. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el al menos un agente quimioterapéutico es cisplatino.

16. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el al menos un agente quimioterapéutico es carboplatino.

17. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 5 o 9, en donde el compuesto se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de pulmón de células pequeñas tal como, pero sin limitación: cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más etopósido 120 mg/m² IV los días 1-3 cada 21 días durante 4 ciclos; cisplatino 80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 100 mg/m² IV los días 1-3 cada 28 días durante 4 ciclos; cisplatino 60-80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 80-120 mg/m² IV los días 1-3 cada 21-28 días (máximo de 4 ciclos); carboplatino AUC5-6 IV en el día 1 más etopósido 80-100 mg/m² IV en los días 1-3 cada 28 días (máximo de 4 ciclos); cisplatino 60-80 mg/m² IV el día 1 más etopósido 80-120 mg/m² IV los días 1-3 cada 21-28 días; carboplatino AUC5-6 IV en el día 1 más etopósido 80-100 mg/m² IV en los días 1-3 cada 28 días (máximo 6 ciclos); cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días (máximo 6 ciclos); cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días (máximo 6 ciclos); carboplatino AUC5 IV en el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV en los días 1, 8 y 15 cada 28 días (máximo 6 ciclos); carboplatino AUC4-5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días (máximo 6 ciclos); ciclofosfamida 800-1000 mg/m² IV el día 1 más doxorrubicina 40-50 mg/m² IV el día 1 más vincristina 1-1,4 mg/m² IV el día 1 cada 21-28 días (máximo 6 ciclos); etopósido 50 mg/m² PO al día durante 3 semanas cada 4 semanas; topotecan 2,3 mg/m² PO los días 1-5 cada 21 días; topotecan 1,5 mg/m² IV en los días 1-5 cada 21 días; carboplatino AUC5 IV el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; carboplatino AUC4 - 5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días; paclitaxel 80 mg/m² IV semanalmente por 6 semanas cada 8 semanas; paclitaxel 175 mg/m² IV el día 1 cada 3 semanas; etopósido 50 mg/m² PO diariamente por 3 semanas cada 4 semanas; topotecan 2,3 mg/m² PO los días 1-5 cada 21 días; topotecan 1,5 mg/m² IV en los días 1-5 cada 21 días; carboplatino AUC5 IV el día 1 más irinotecán 50 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; carboplatino AUC4-5 IV el día 1 más irinotecán 150-200 mg/m² IV el día 1 cada 21 días; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 más irinotecán 60 mg/m² IV los días 1, 8 y 15 cada 28 días; cisplatino 60 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 60 mg/m² IV el día 1, 8 y 15 cada 28d; cisplatino 30 mg/m² IV los días 1 y 8 u 80 mg/m² IV el día 1 más irinotecán 65 mg/m² IV los días 1 y 8 cada 21 días; paclitaxel 80 mg/m² IV semanalmente por 6 semanas cada 8 semanas; y paclitaxel 175 mg/m² IV en el día 1 cada 3 semanas.

18. El compuesto o sal para usar de acuerdo con la reivindicación 17 en donde el compuesto se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de pulmón de células pequeñas de topotecan 1,5 mg/m² IV en días 1-5 cada 21d.

19. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17 en donde el compuesto se administra para proporcionar quimioprotección en un protocolo de terapia de cáncer de pulmón de células pequeñas de topotecan 2,3 mg/m² PO en los días 1-5 cada 21 días.

20. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde el compuesto o sal se administra por vía intravenosa.

21. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde el compuesto o sal se administra por vía oral en una composición farmacéutica.

22. El compuesto o sal para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el sujeto está siendo tratado por cáncer de pulmón de células pequeñas, y el al menos un agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en etopósido y carboplatino, o un combinación de los mismos.

23. El compuesto o sal para uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde el sujeto está siendo tratado para el triple negativo de cáncer de mama.

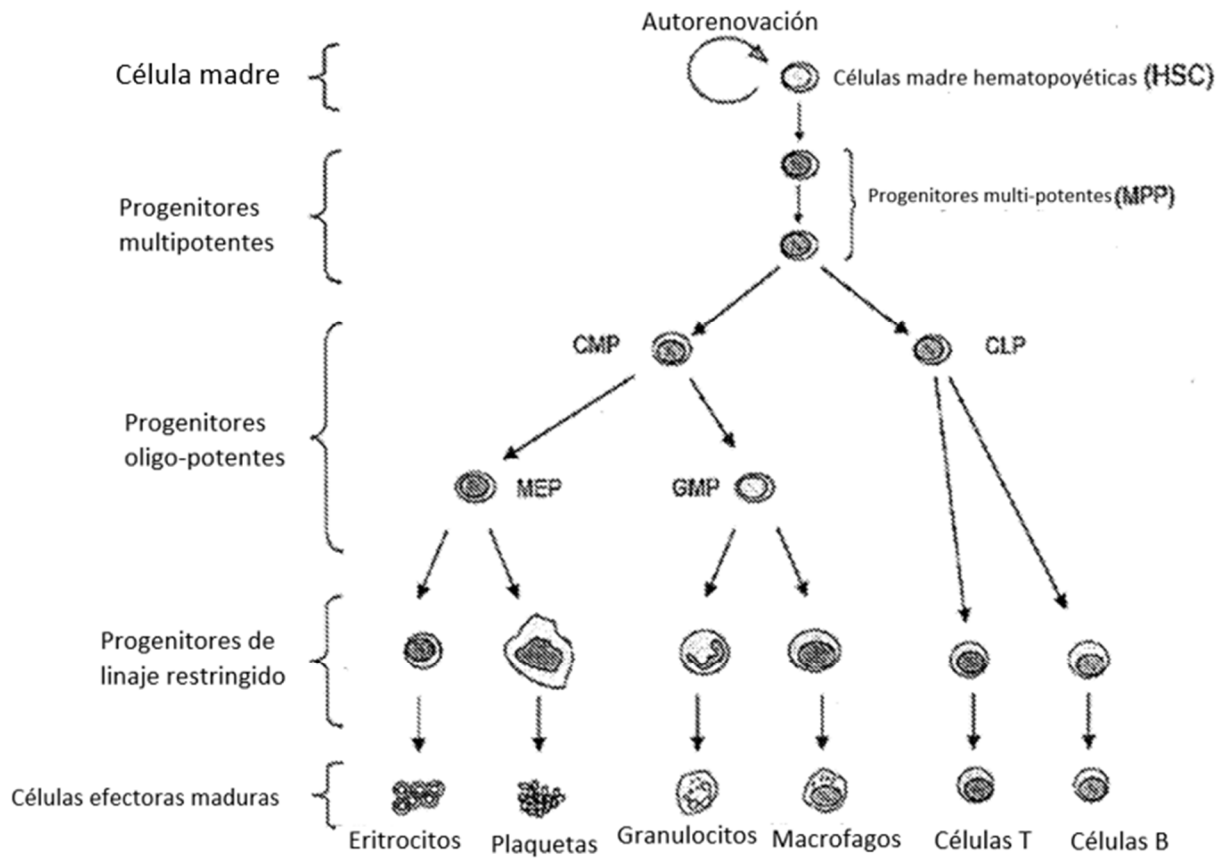


FIG. 1

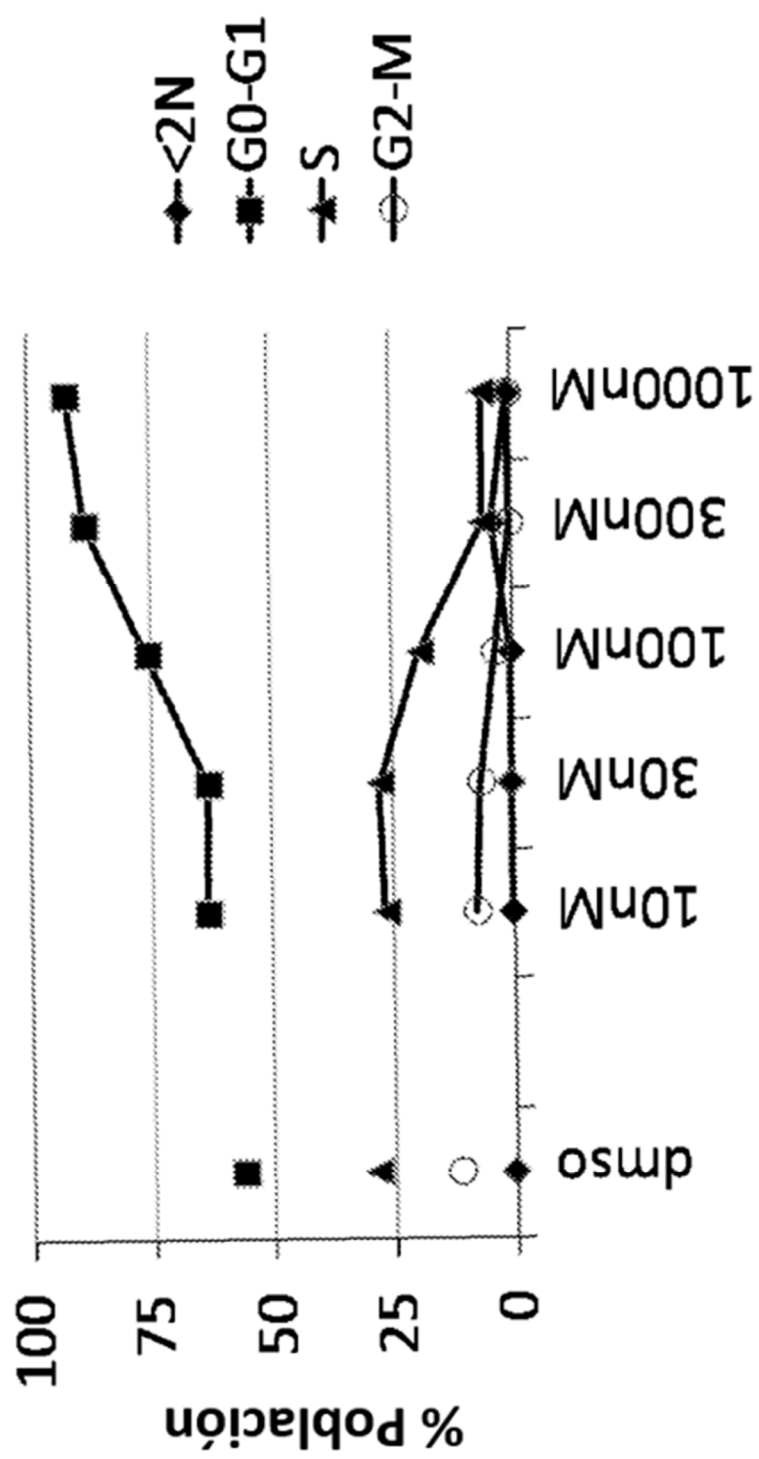


FIG. 2A

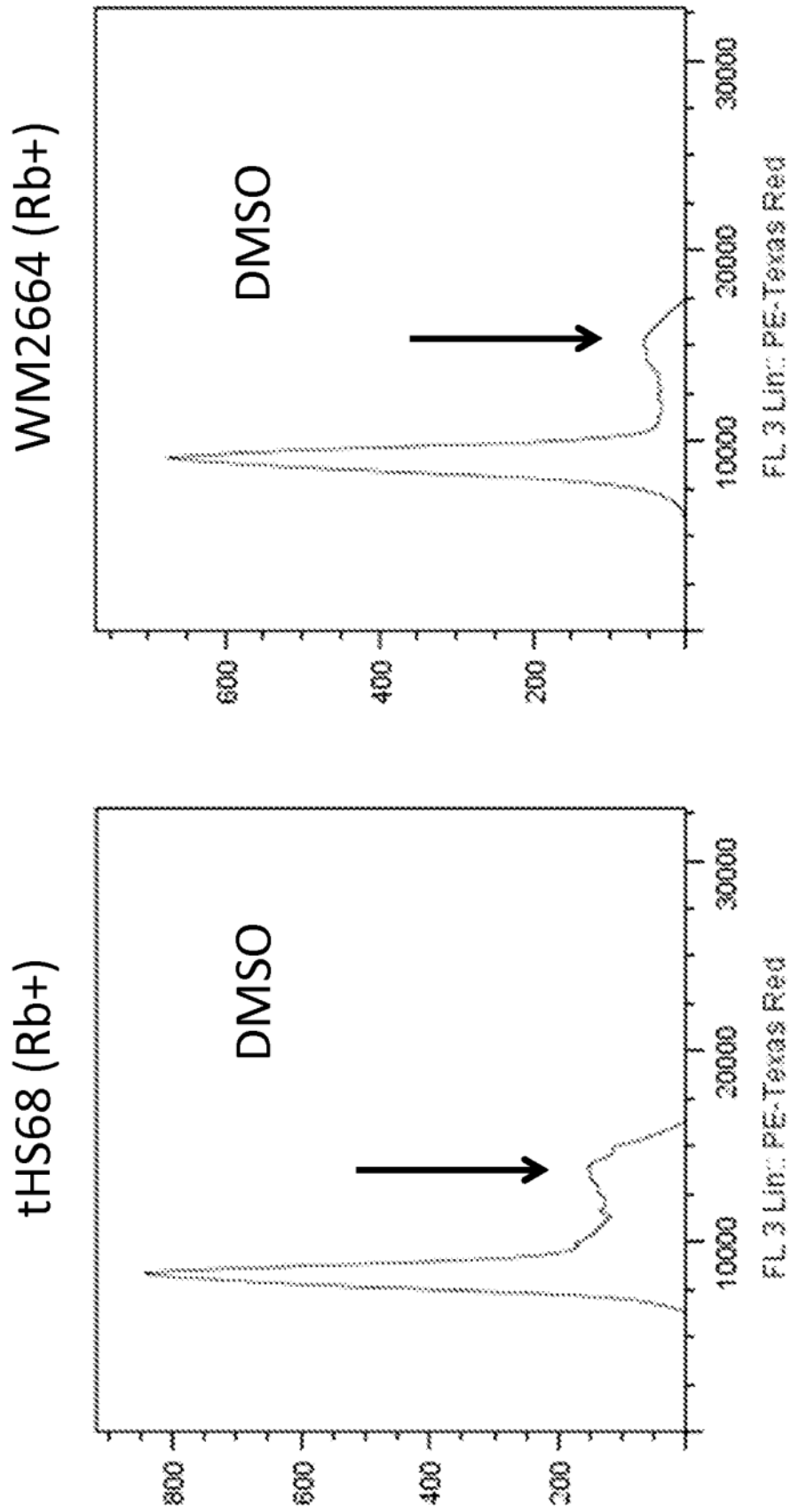


FIG. 2B

FIG. 2C

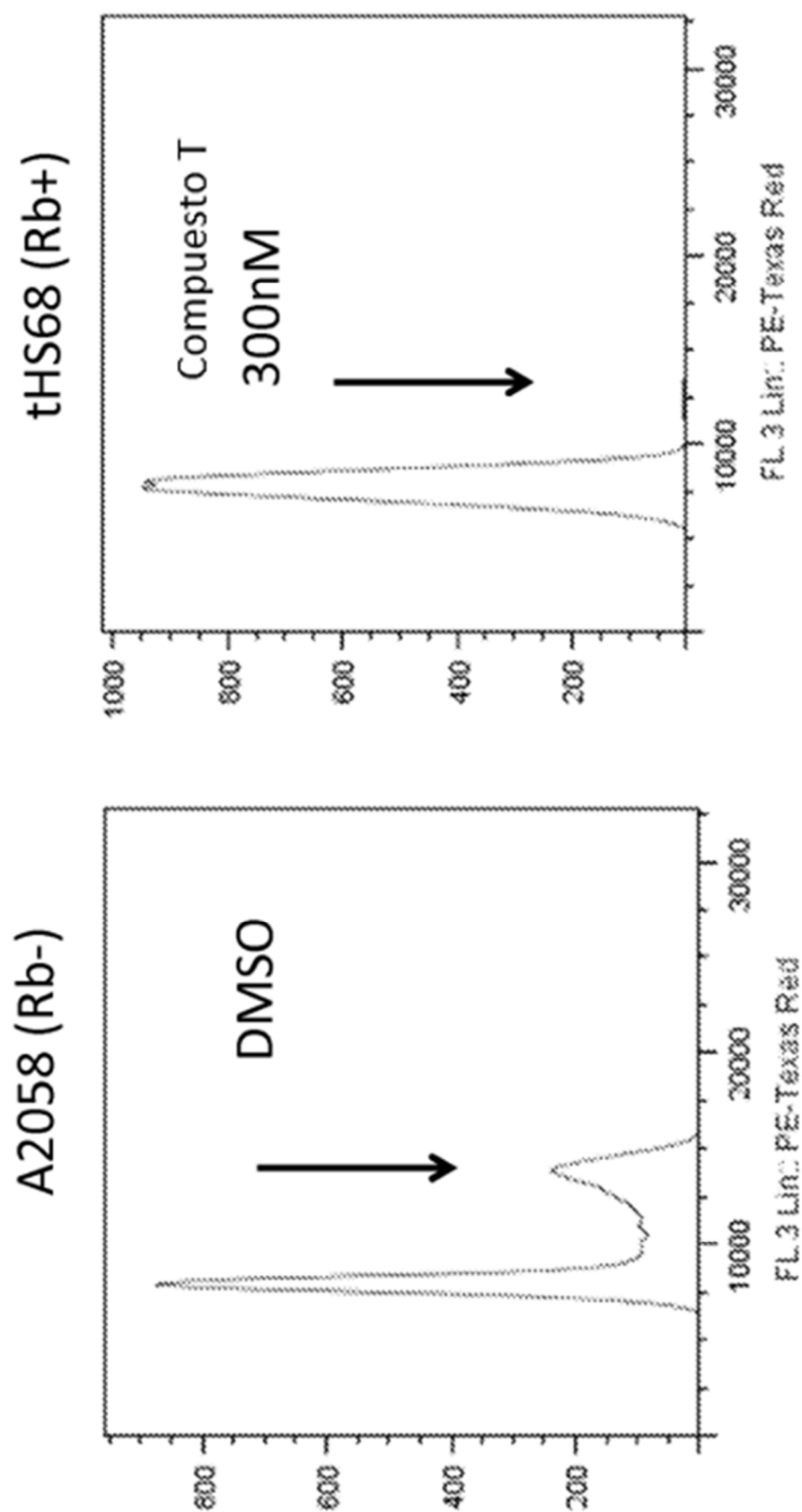


FIG. 2D

FIG. 2E

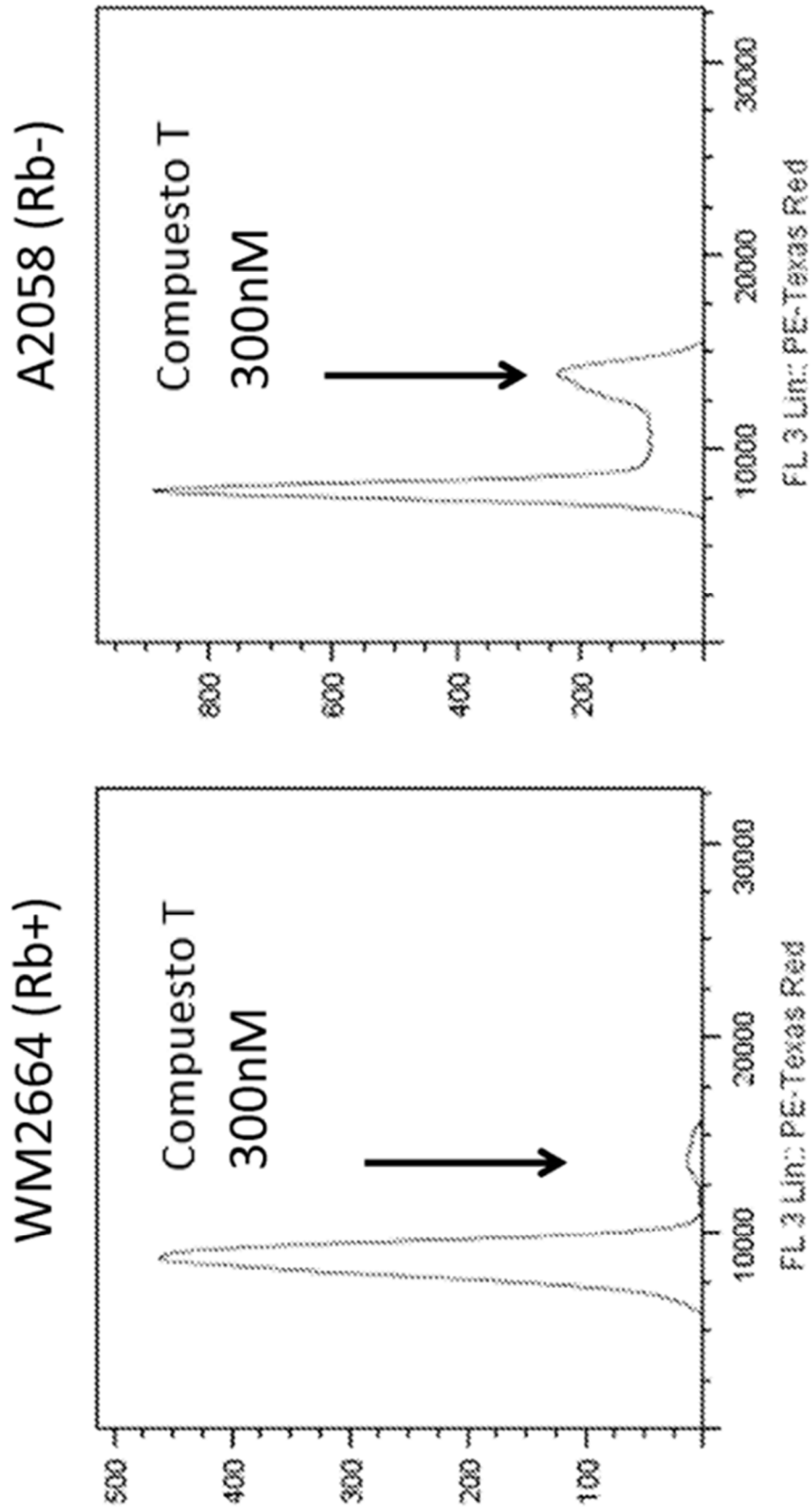


FIG. 2G

FIG. 2F

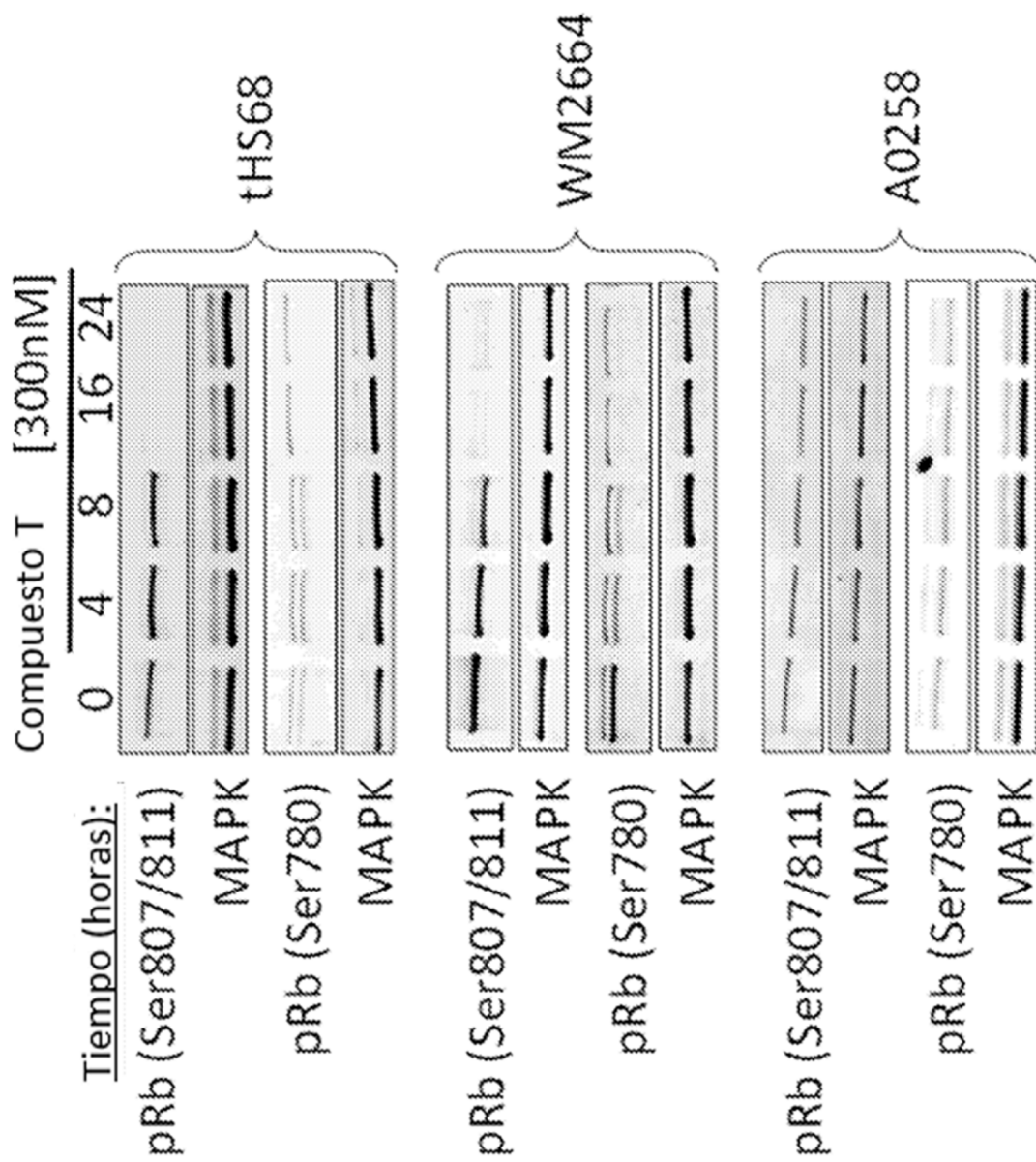


FIG. 3

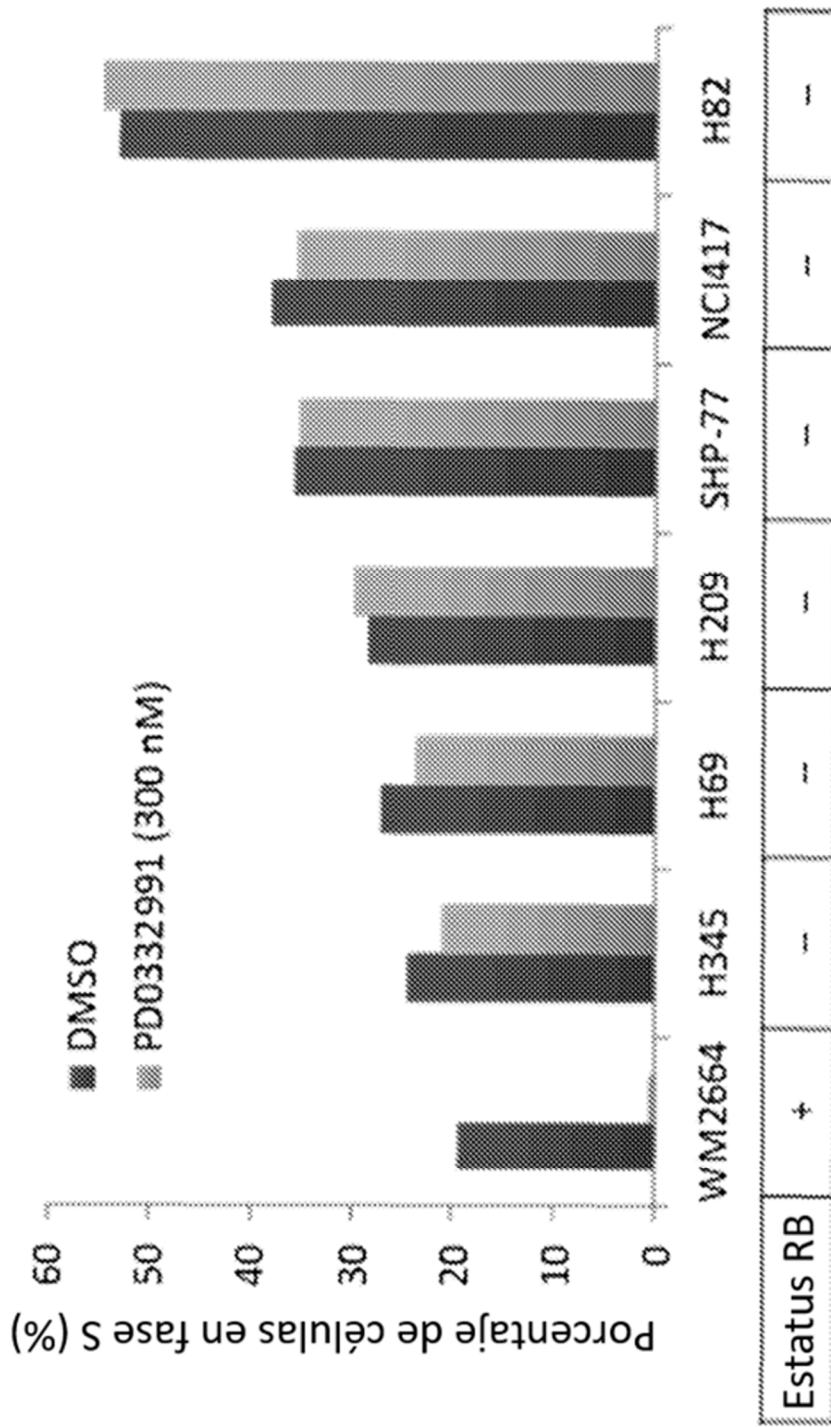


FIG. 4A

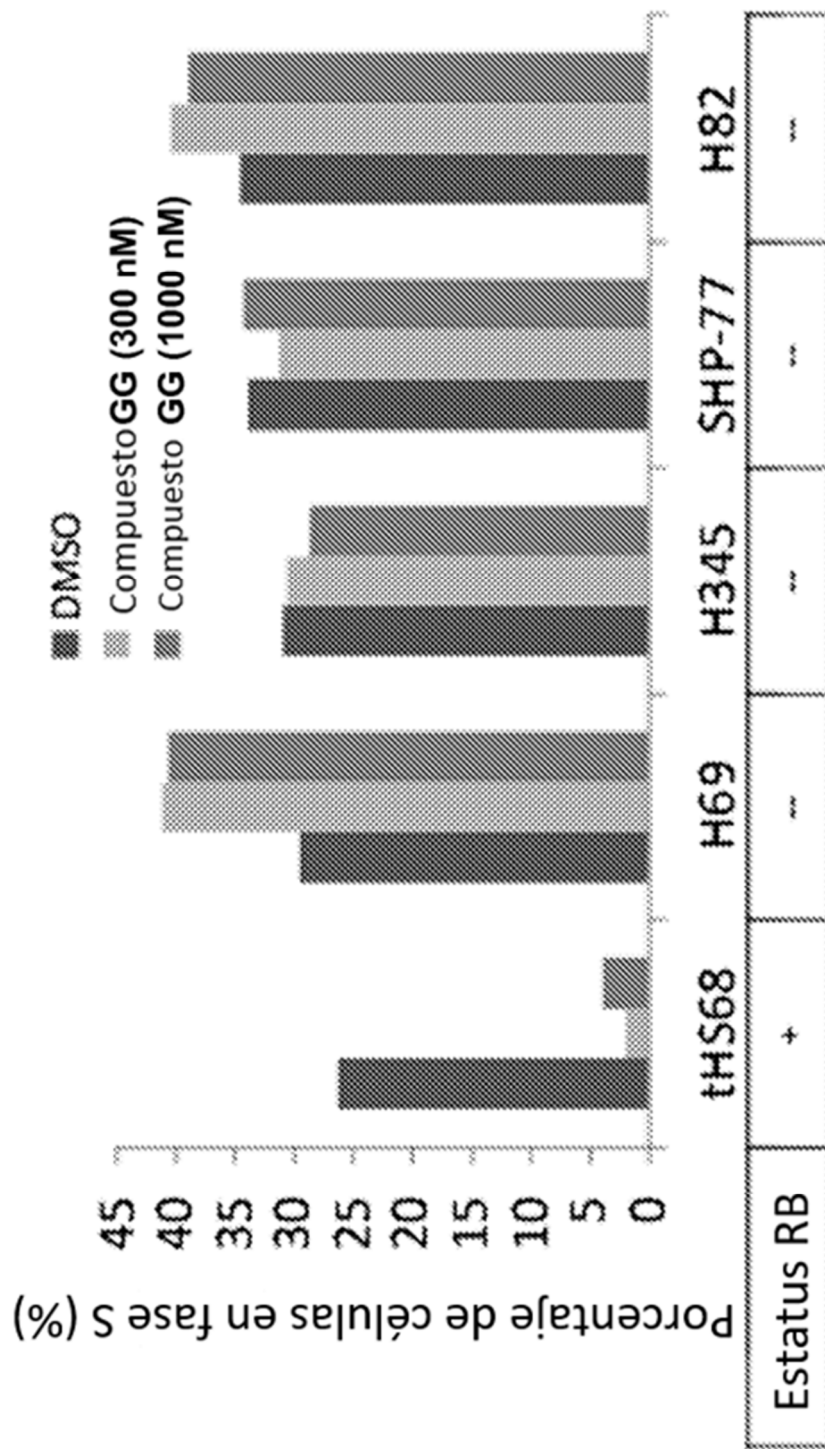


FIG. 4B

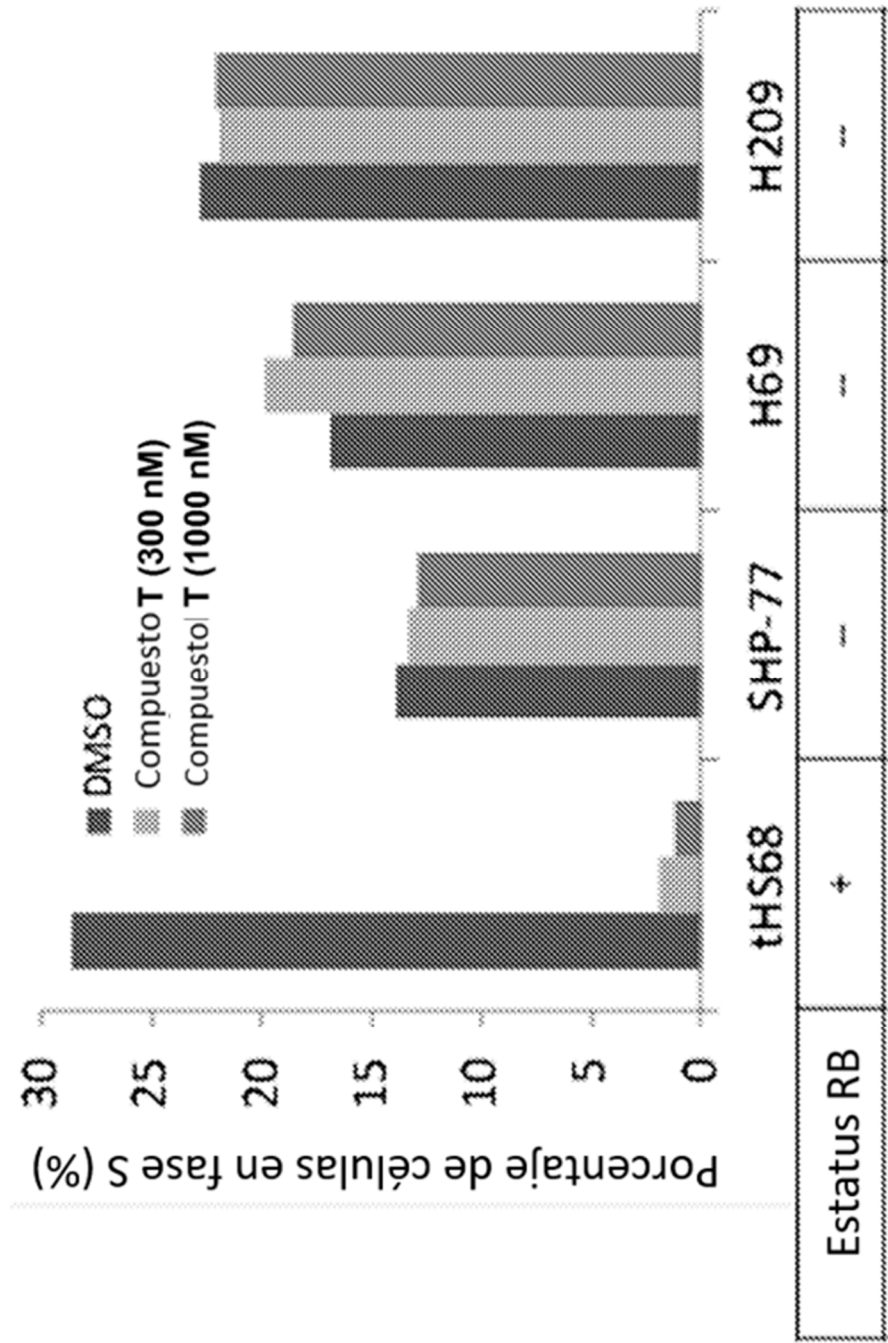


FIG. 4C

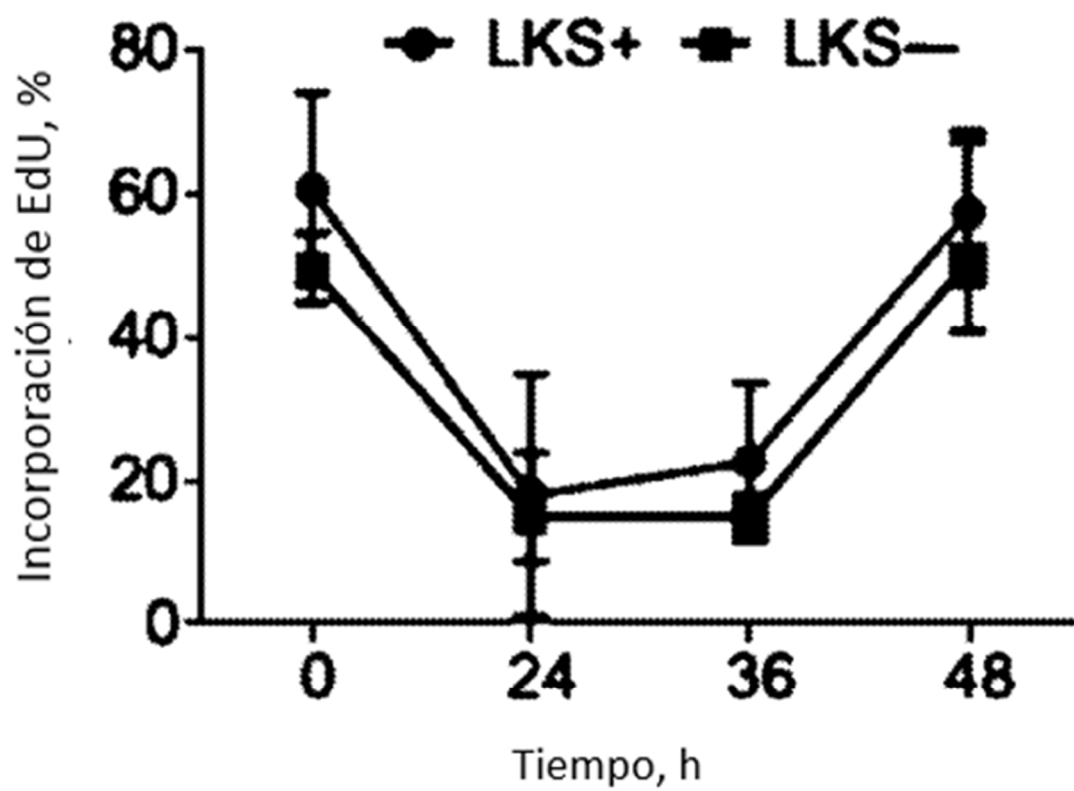


FIG. 5

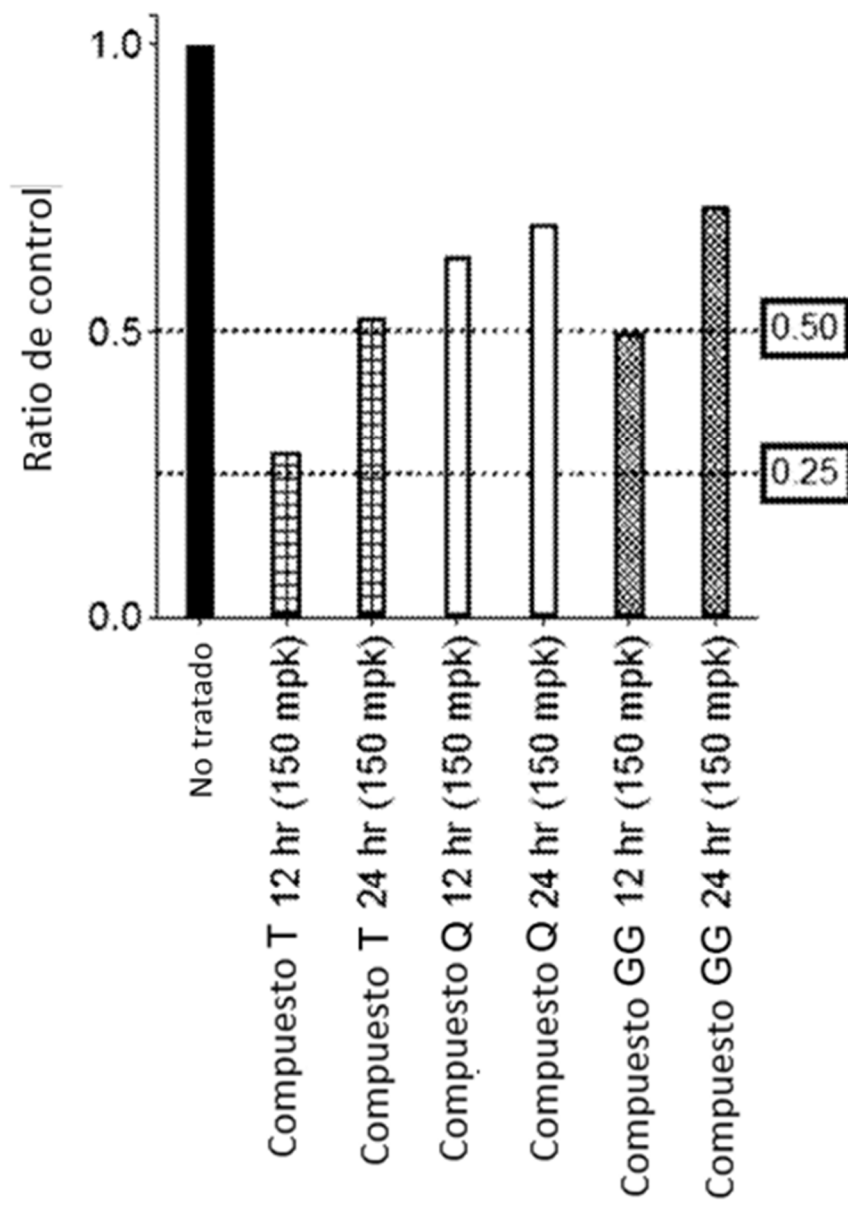


FIG. 6A

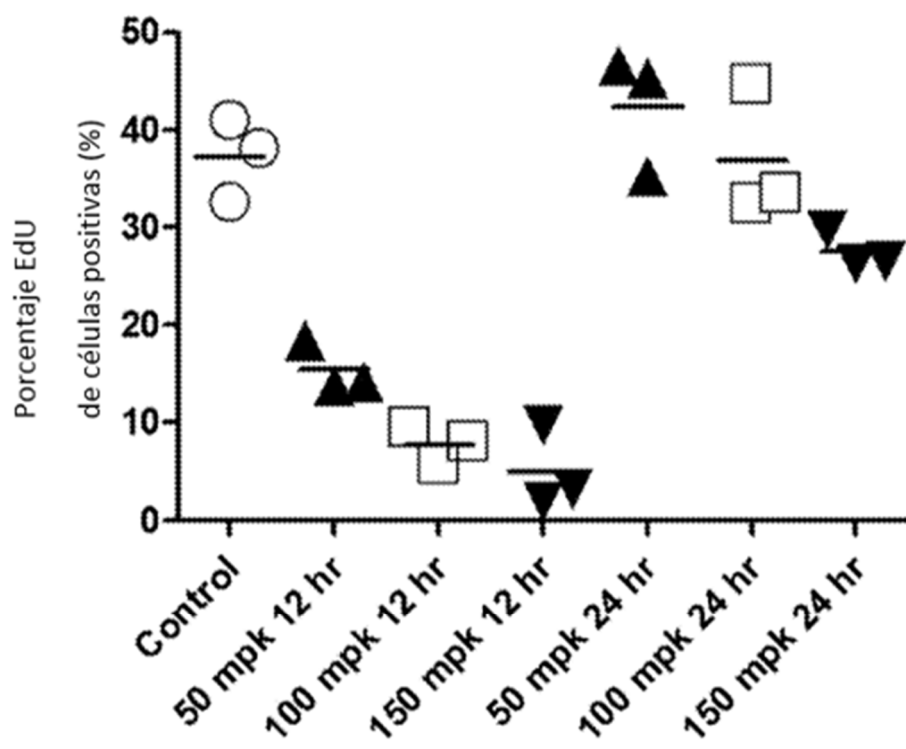


FIG. 6B

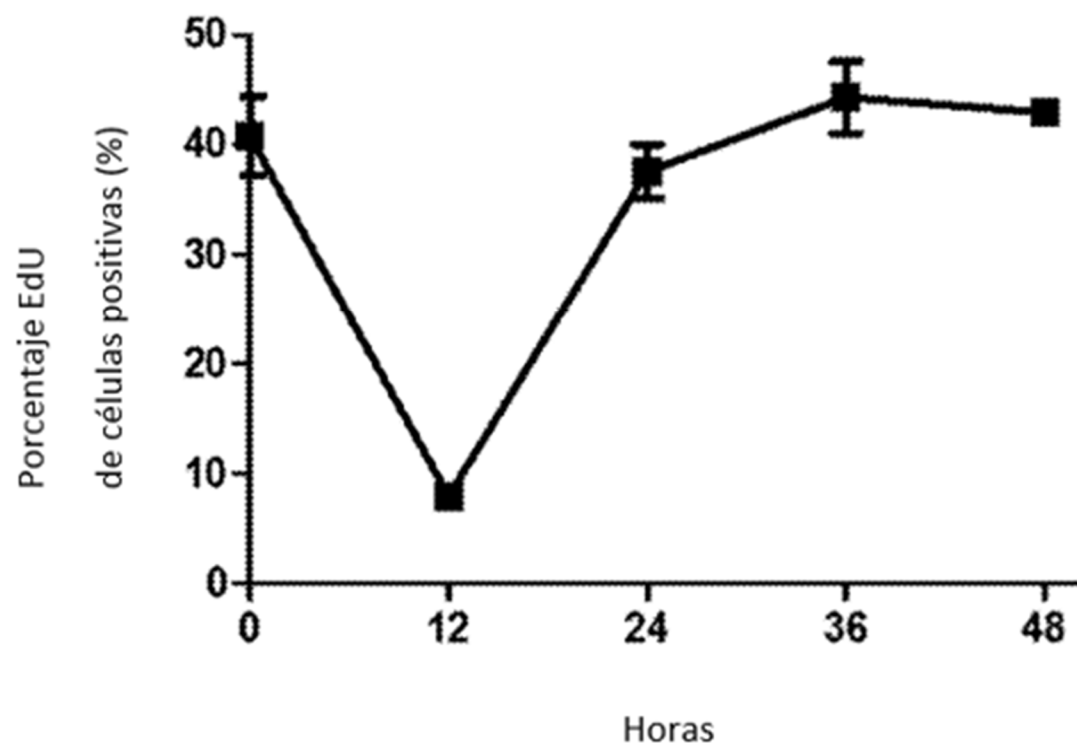


FIG. 6C

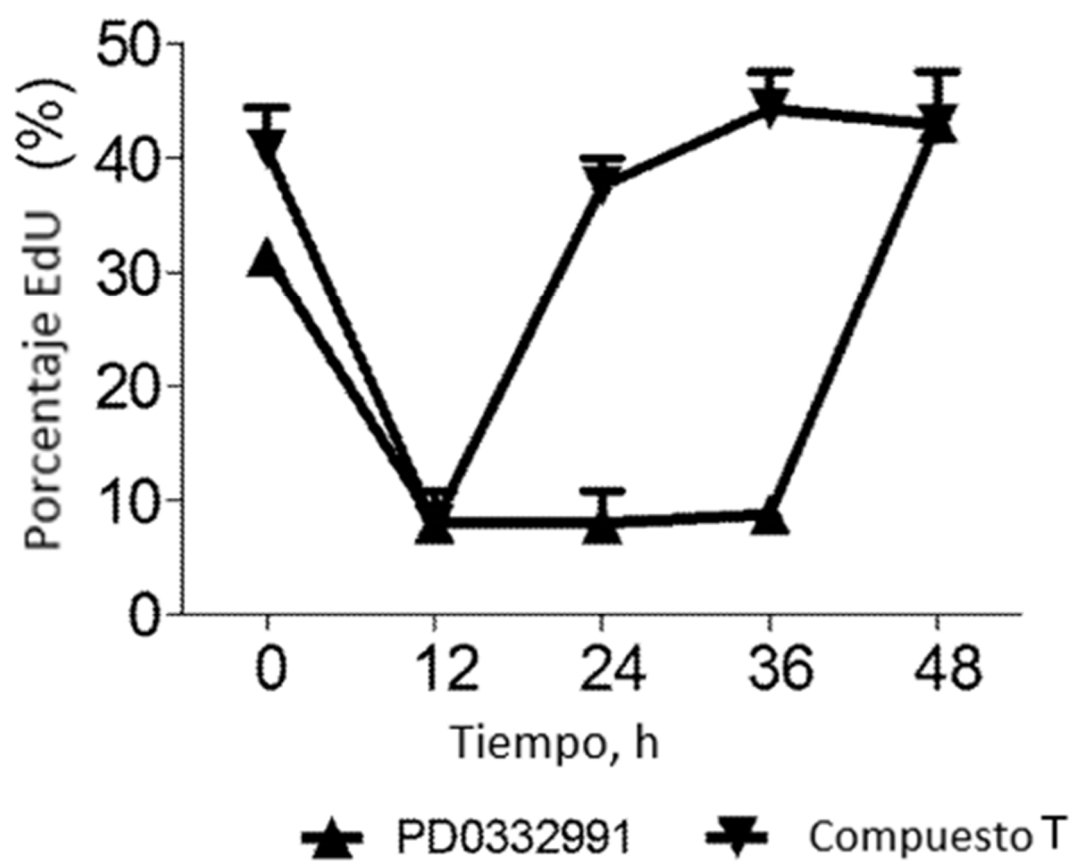


FIG. 7

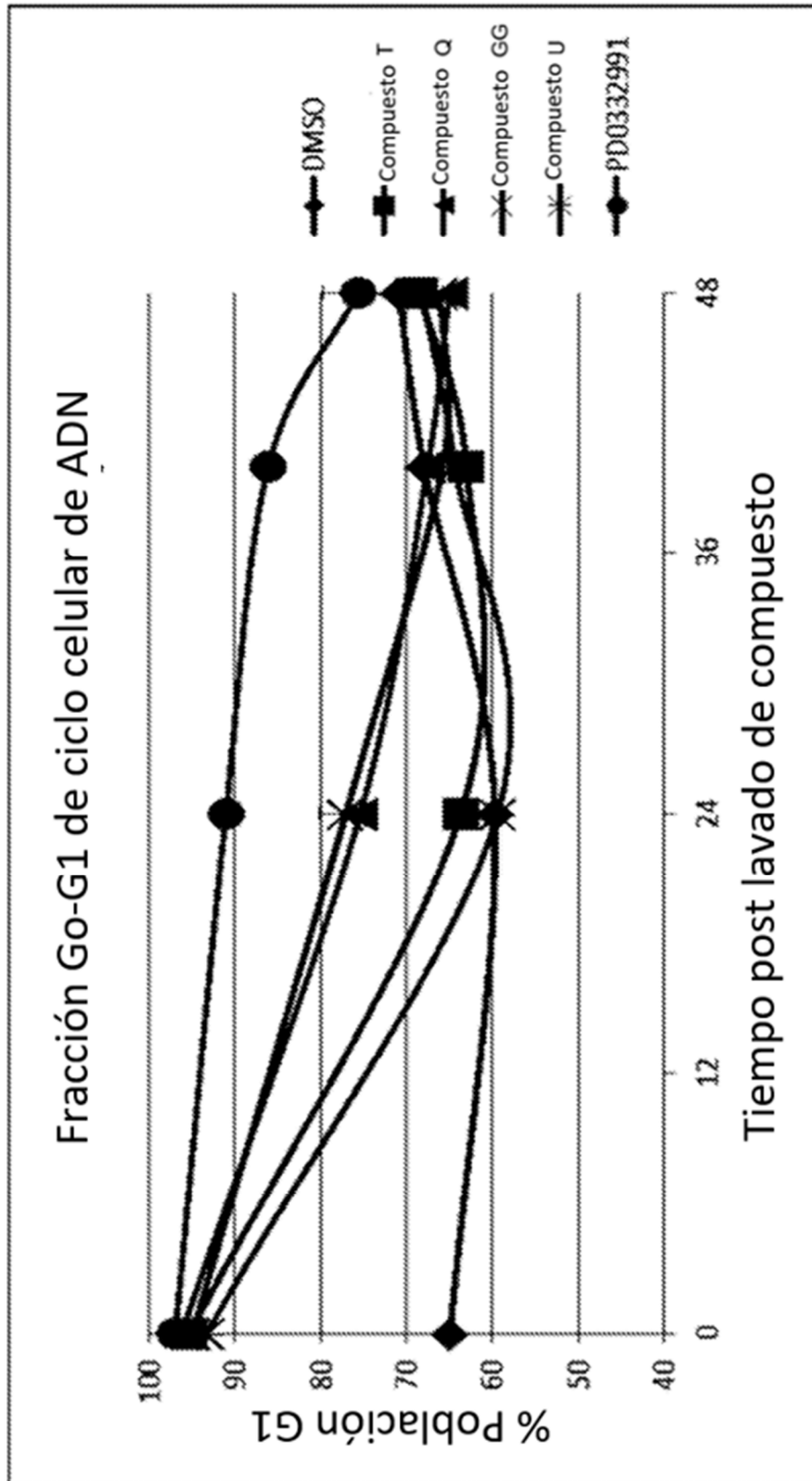


FIG. 8A

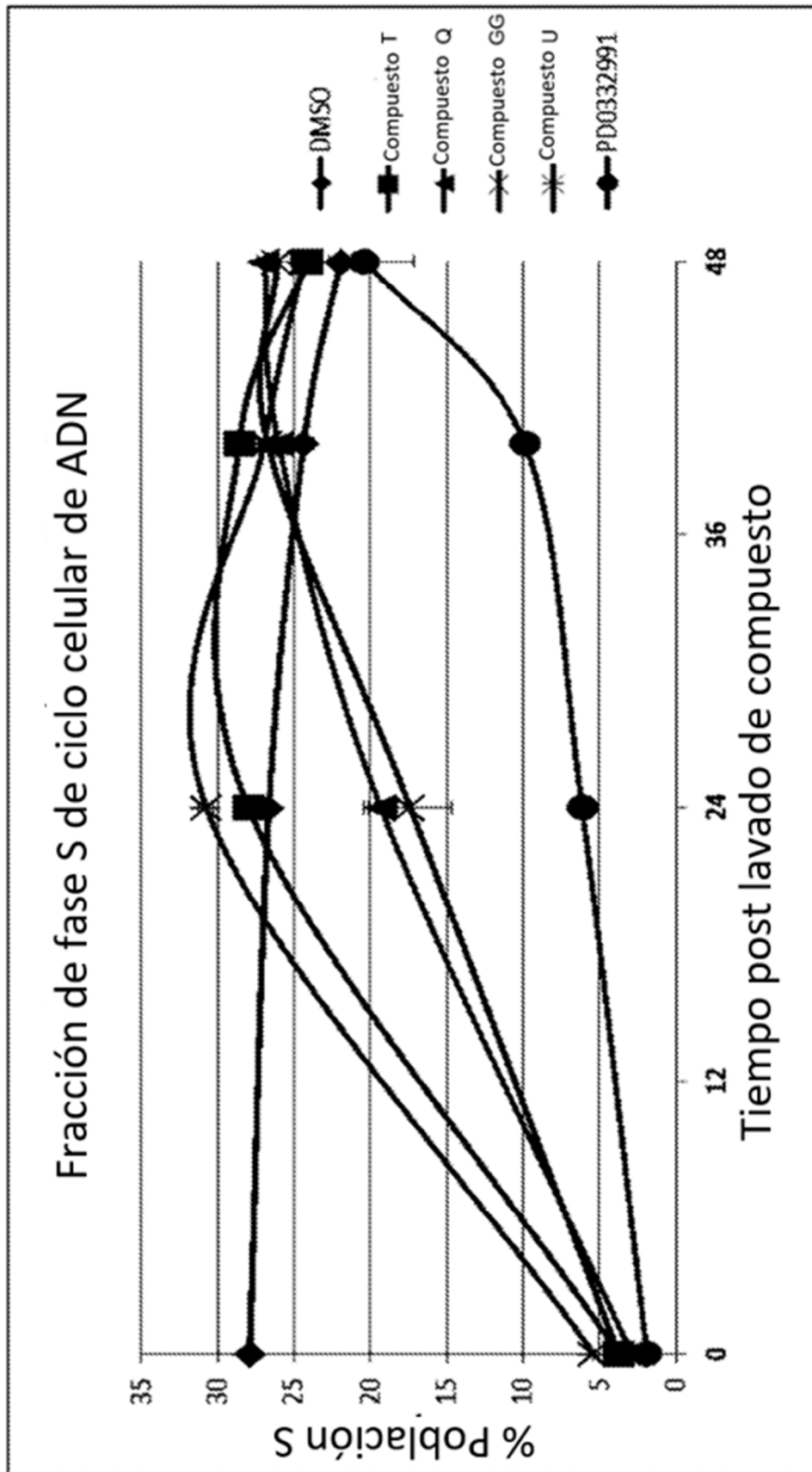


FIG. 8B

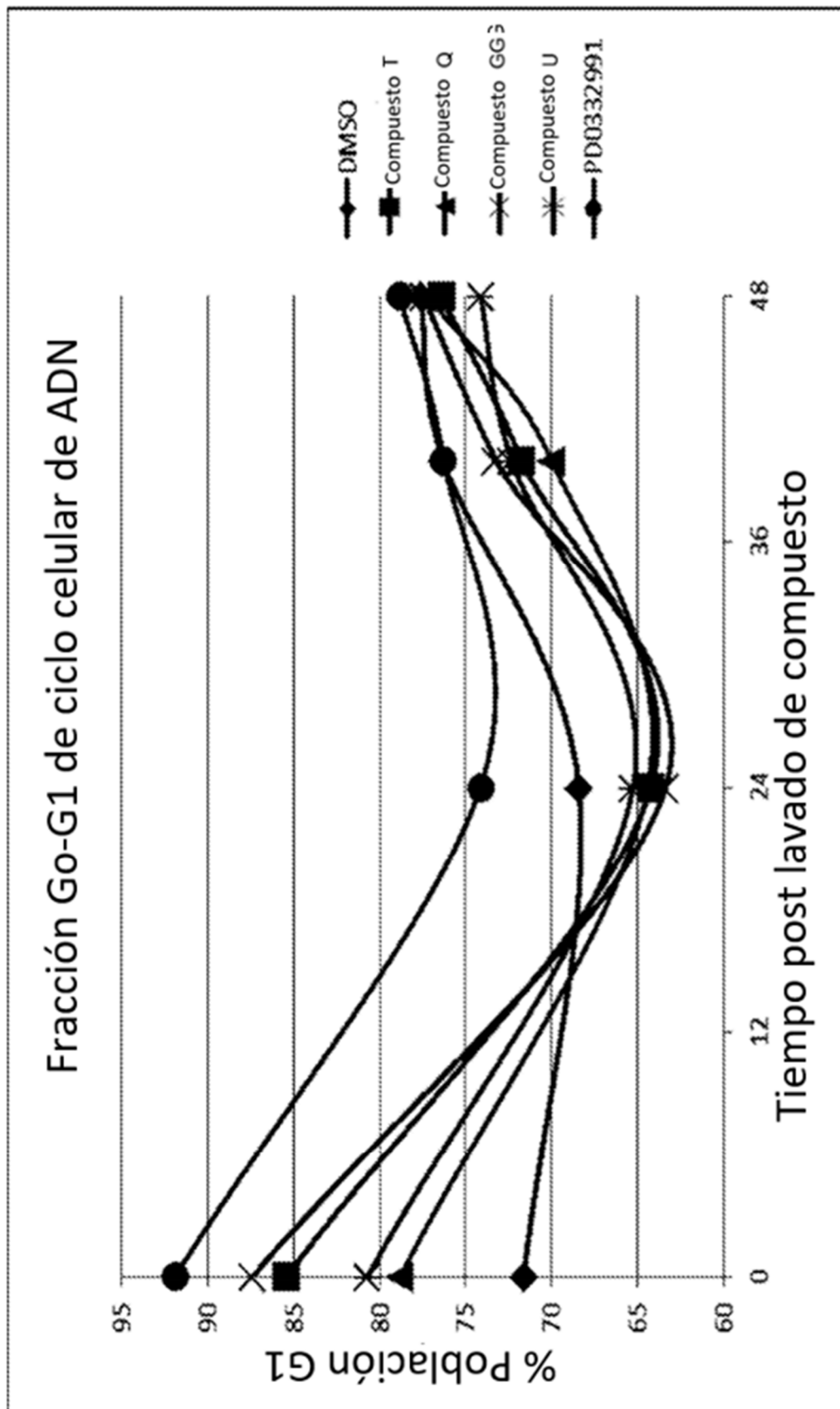


FIG. 8C

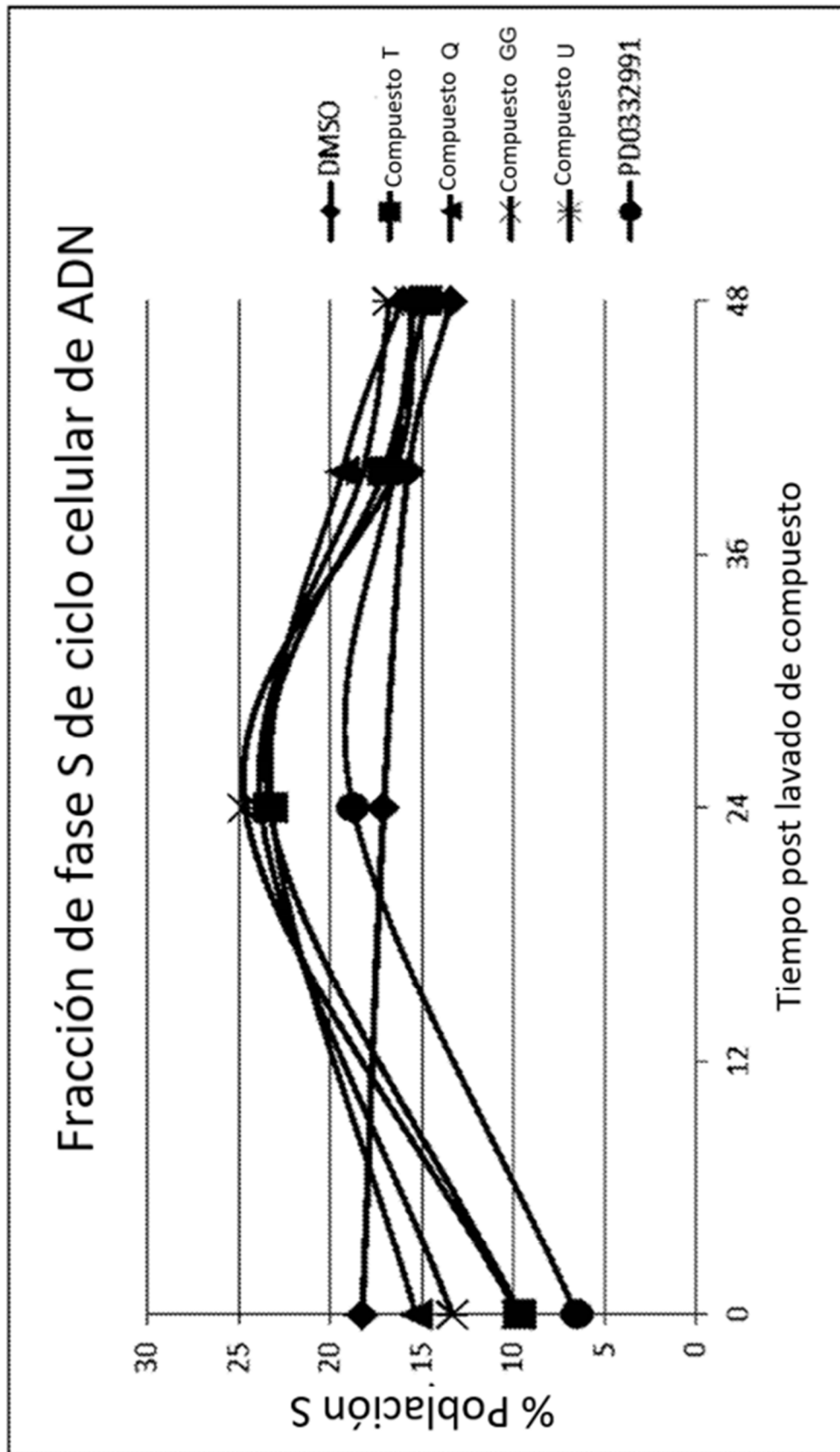


FIG. 8D

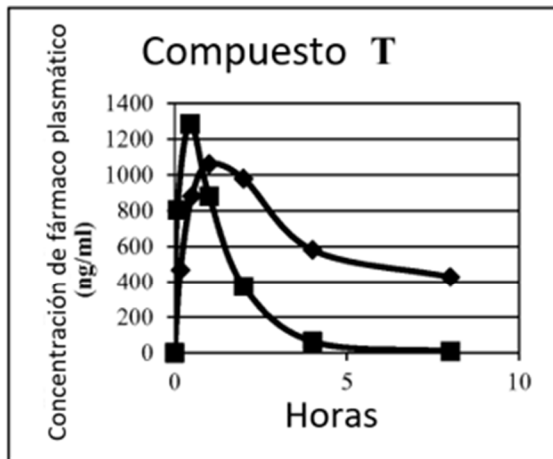


FIG. 9A

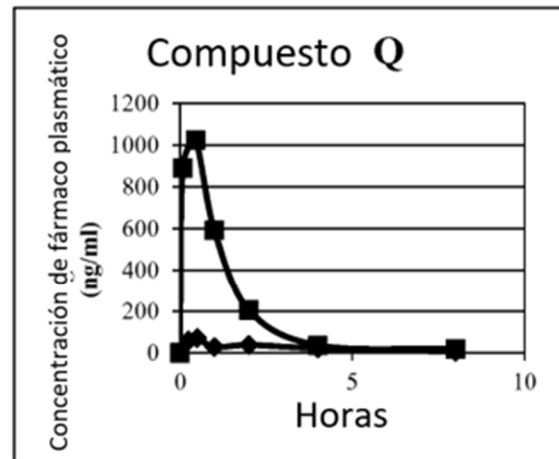


FIG. 9B

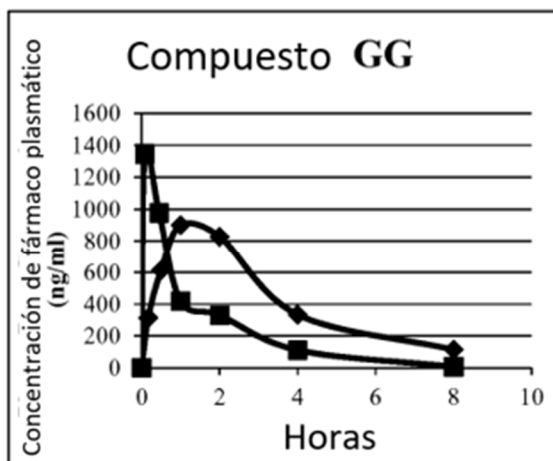


FIG. 9C

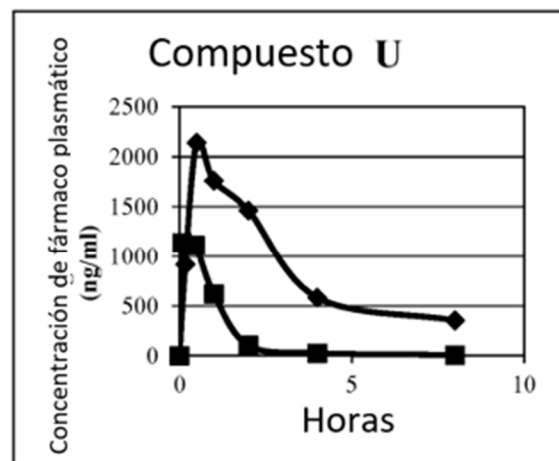


FIG. 9D

Compuesto de prueba	Especies	Vida media (minutos)
Compuesto T	Humanos	>60 (66)
	Monos	30
	Perros	5
	Ratas	>60 (73)
	Ratones	28
PD0332991	Humanos	>60
	Monos	>60
	Perros	>60
	Ratas	>60
	Ratones	>60

FIG. 10

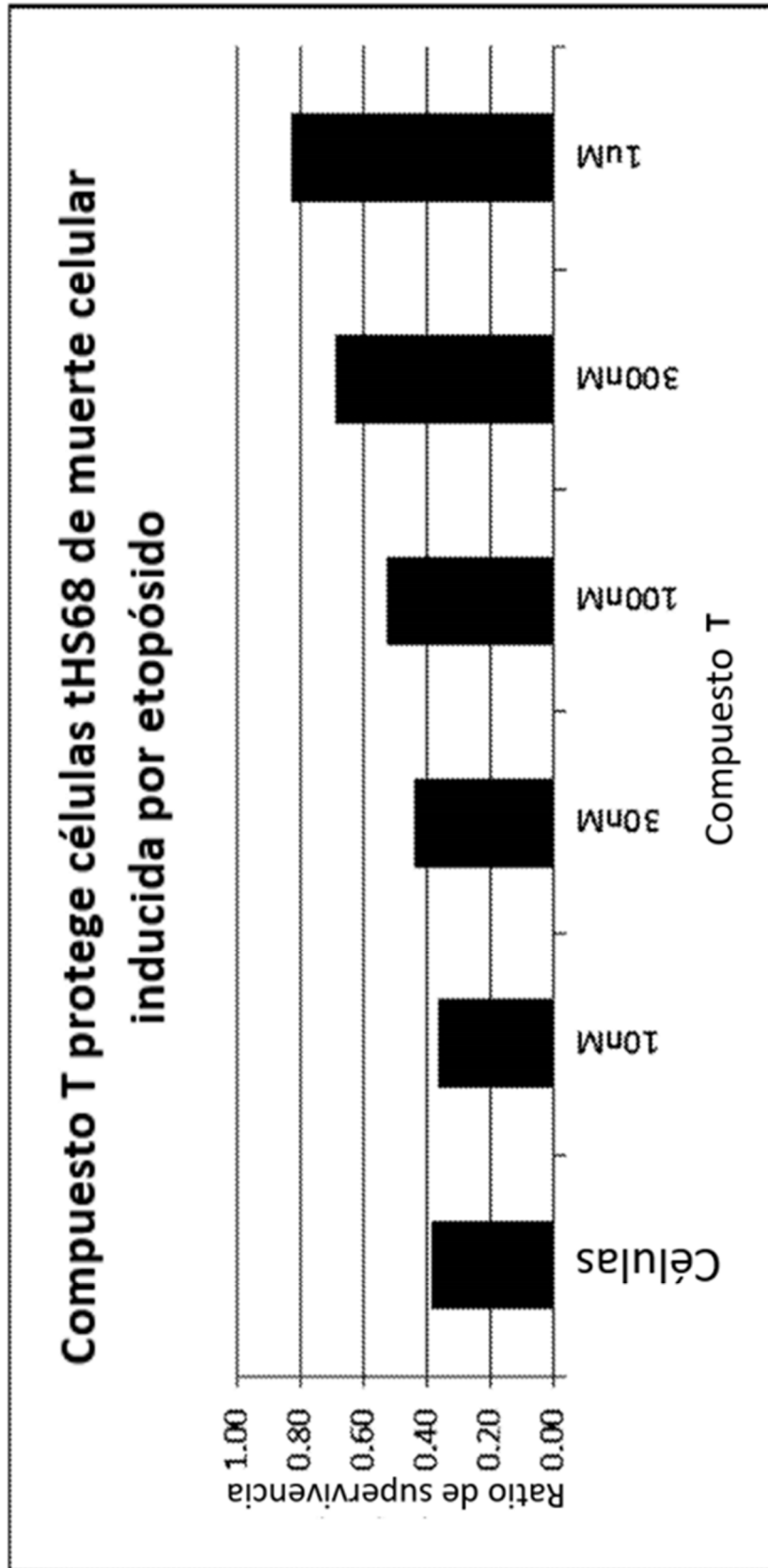


FIG. 11A

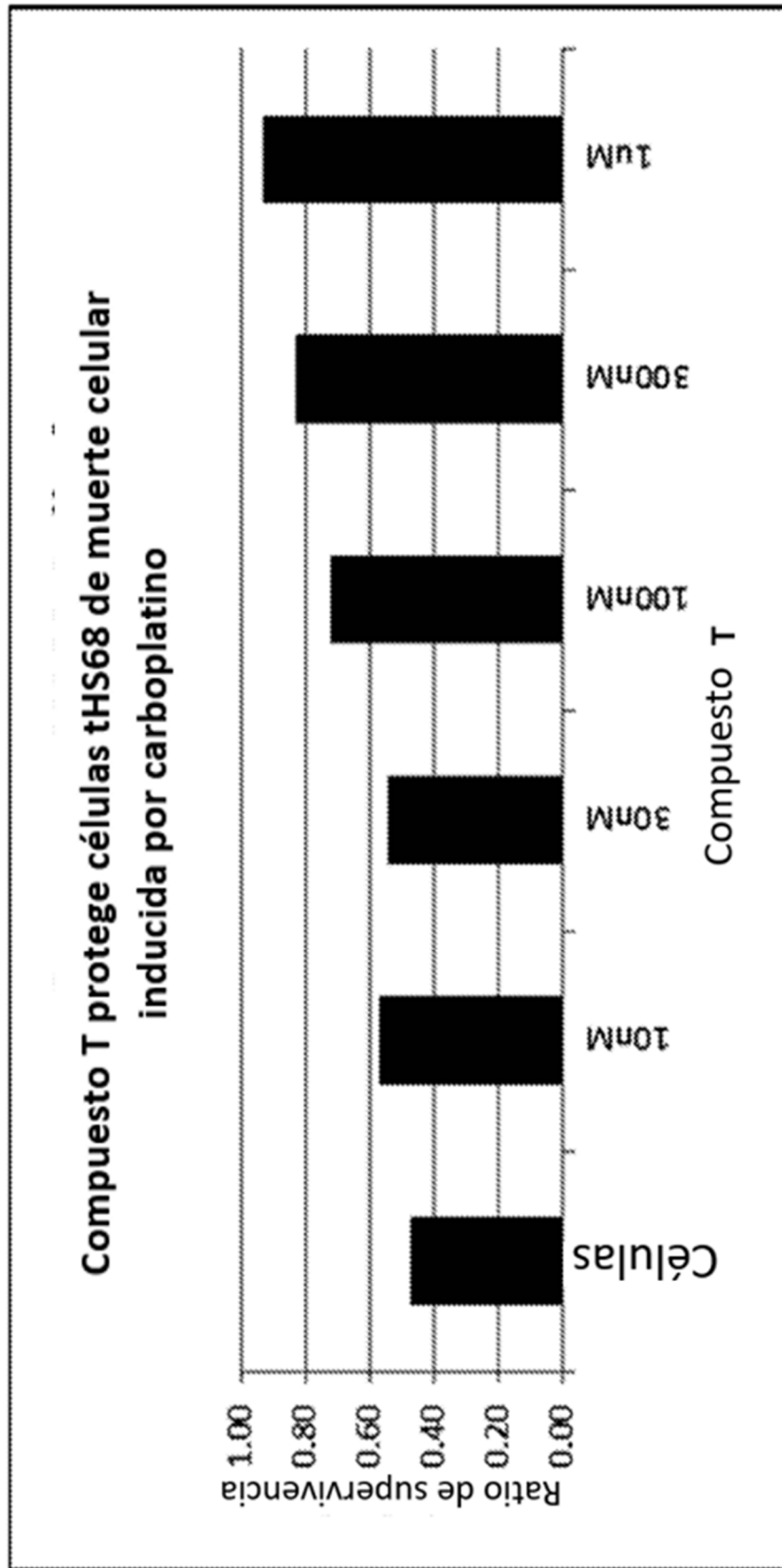


FIG. 11B

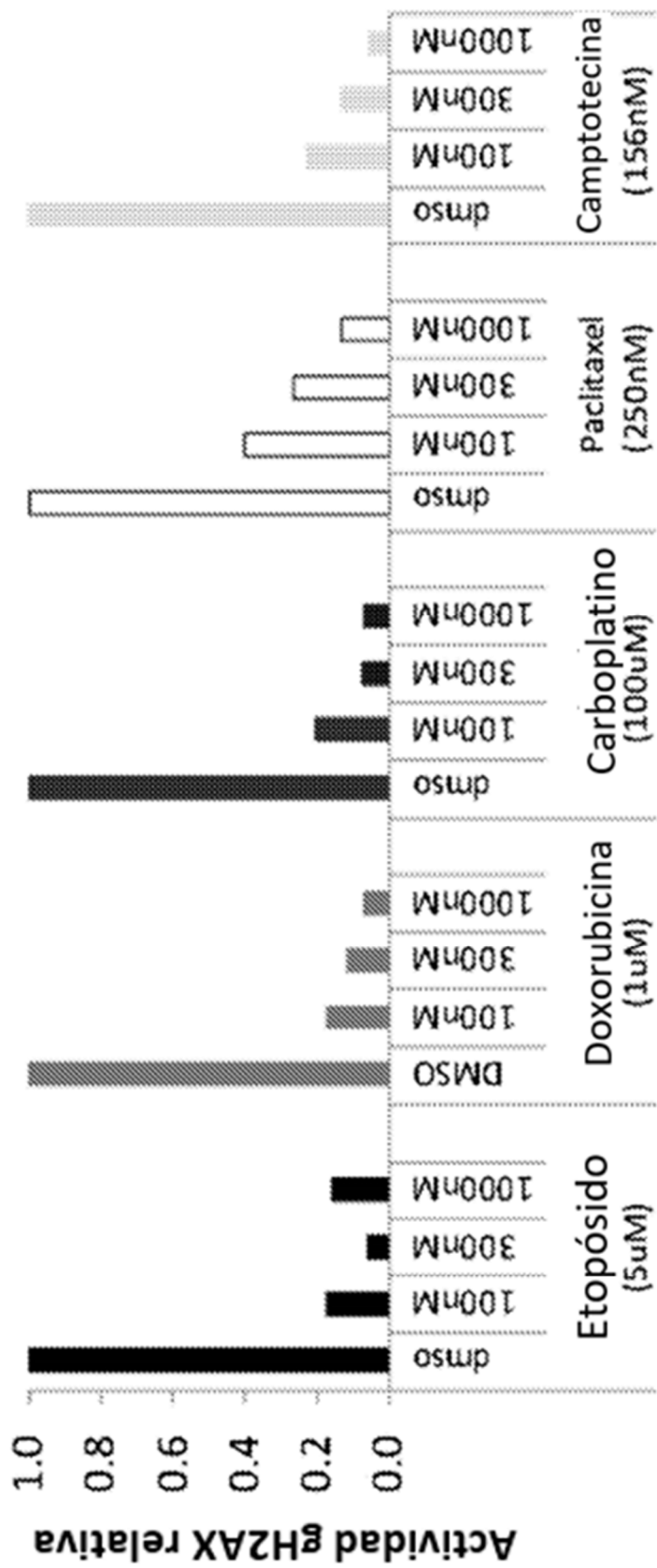


FIG. 12A

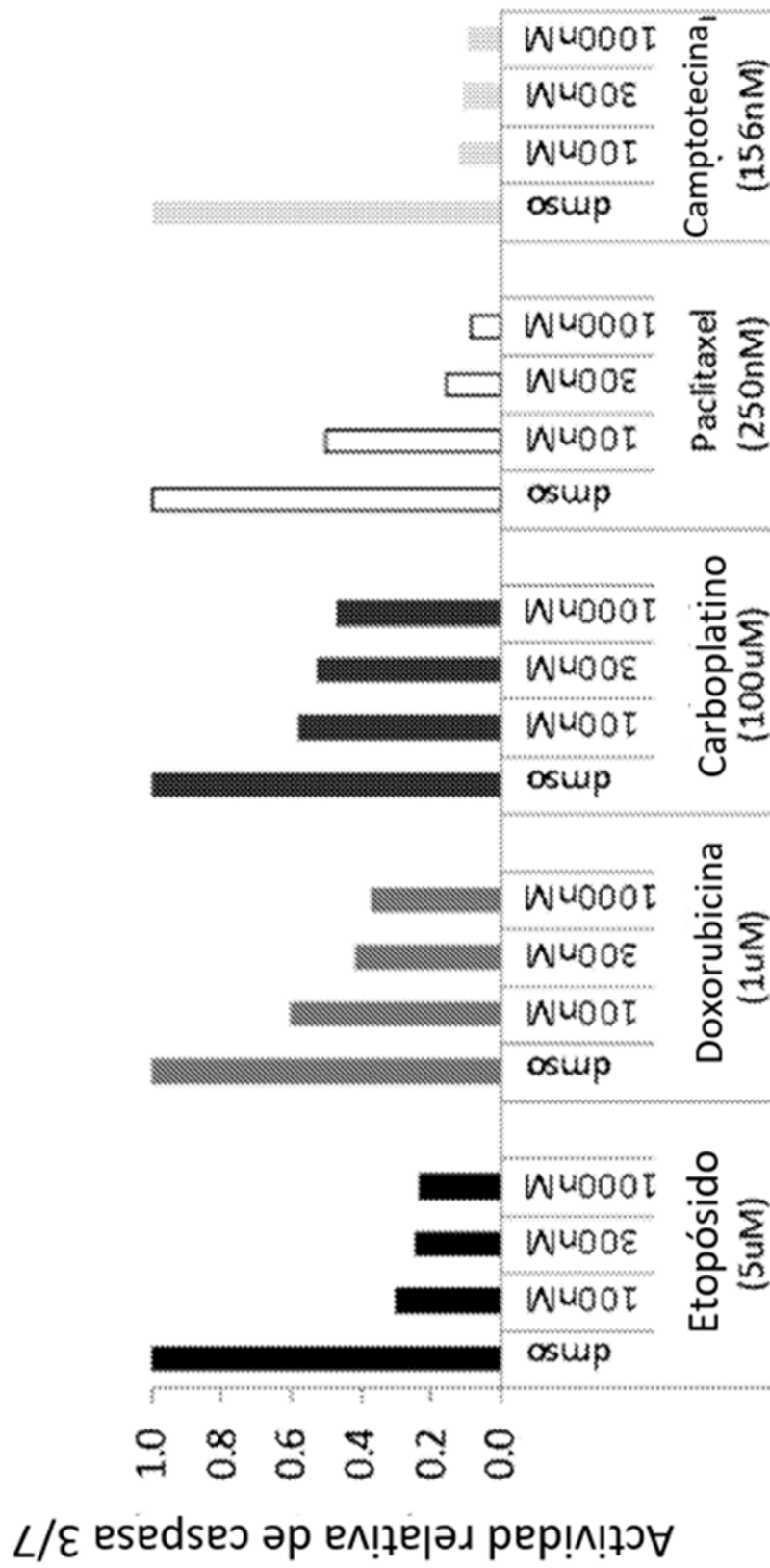


FIG. 12B

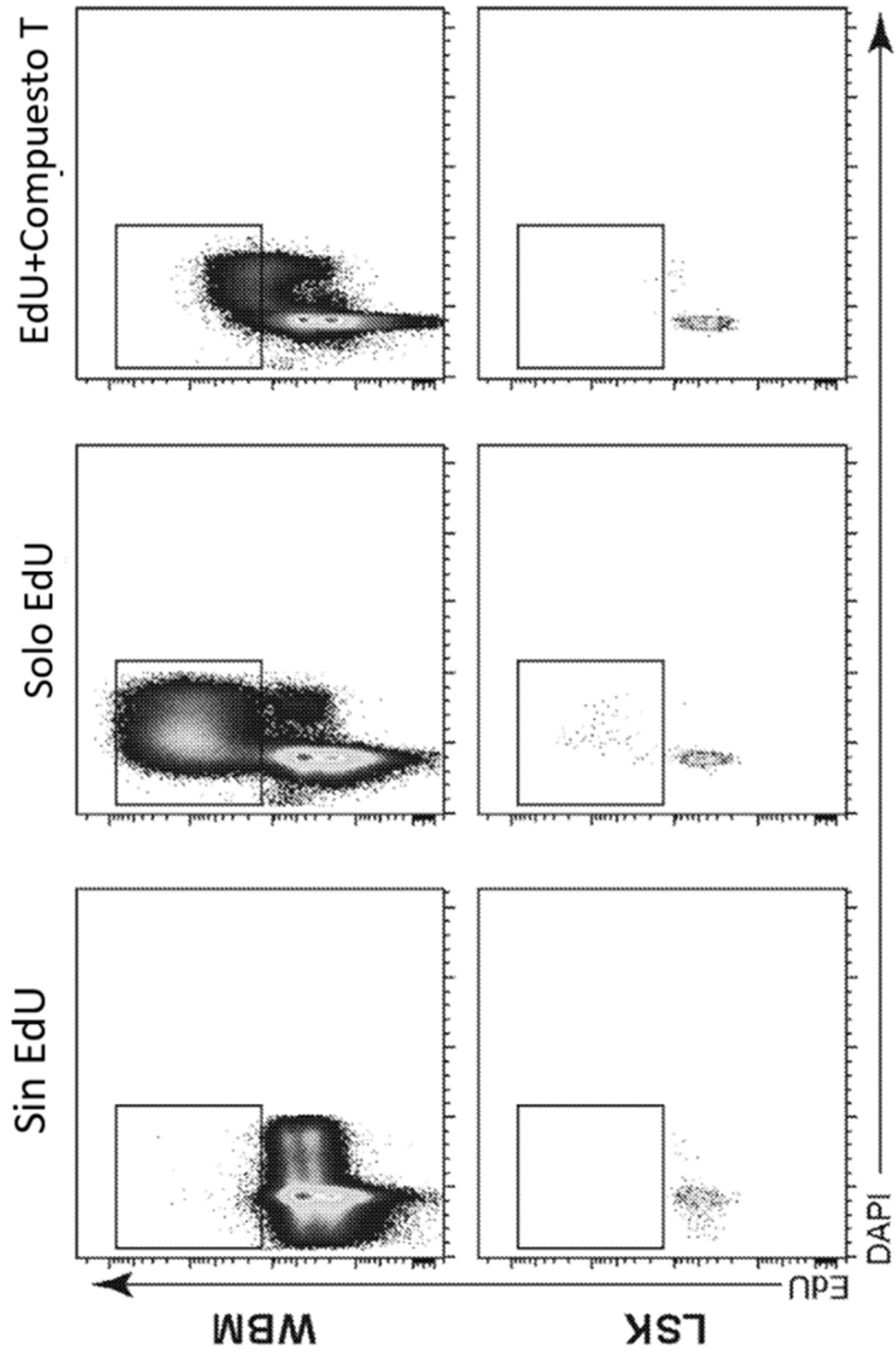


FIG. 13

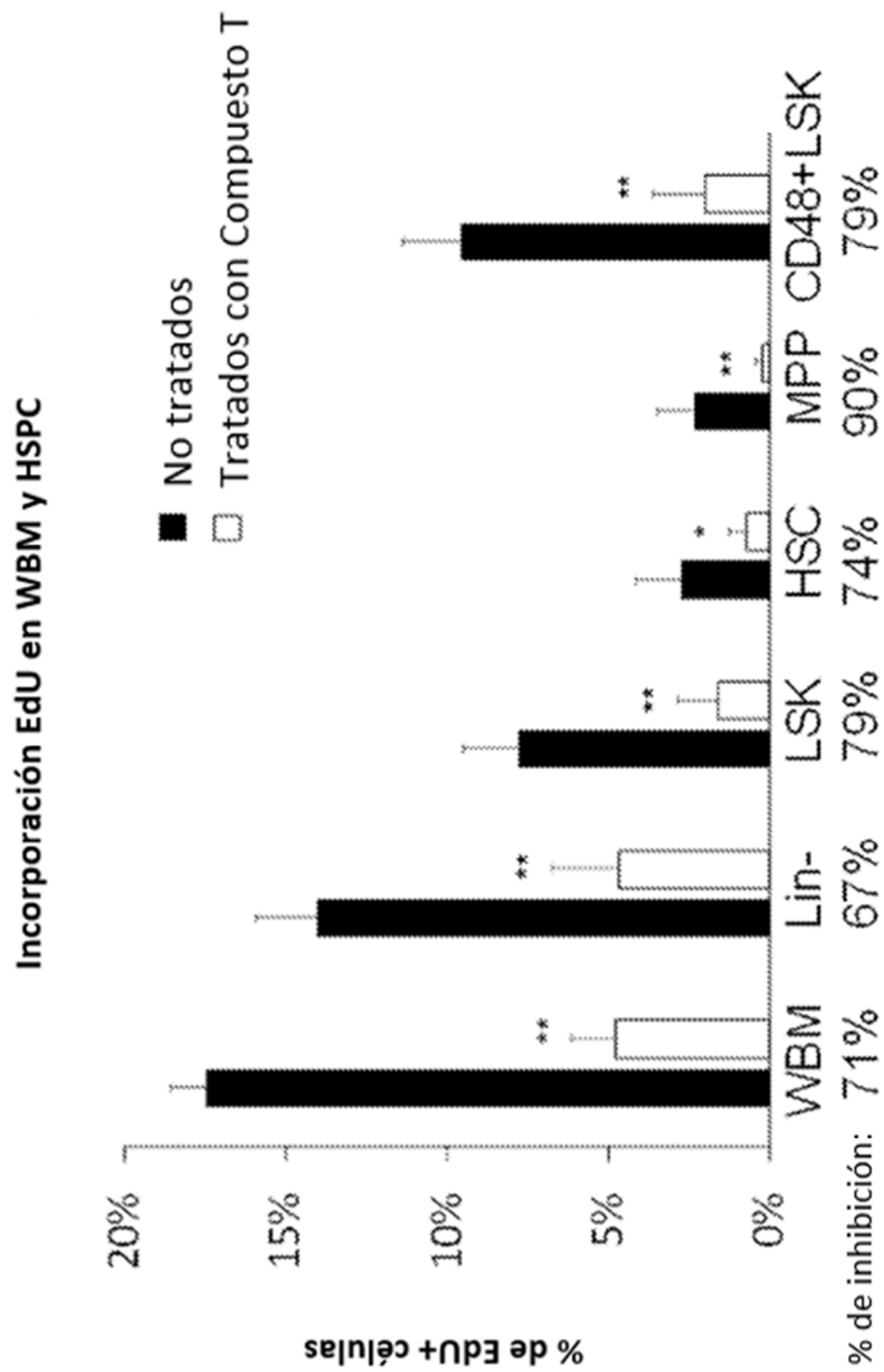


FIG. 14A

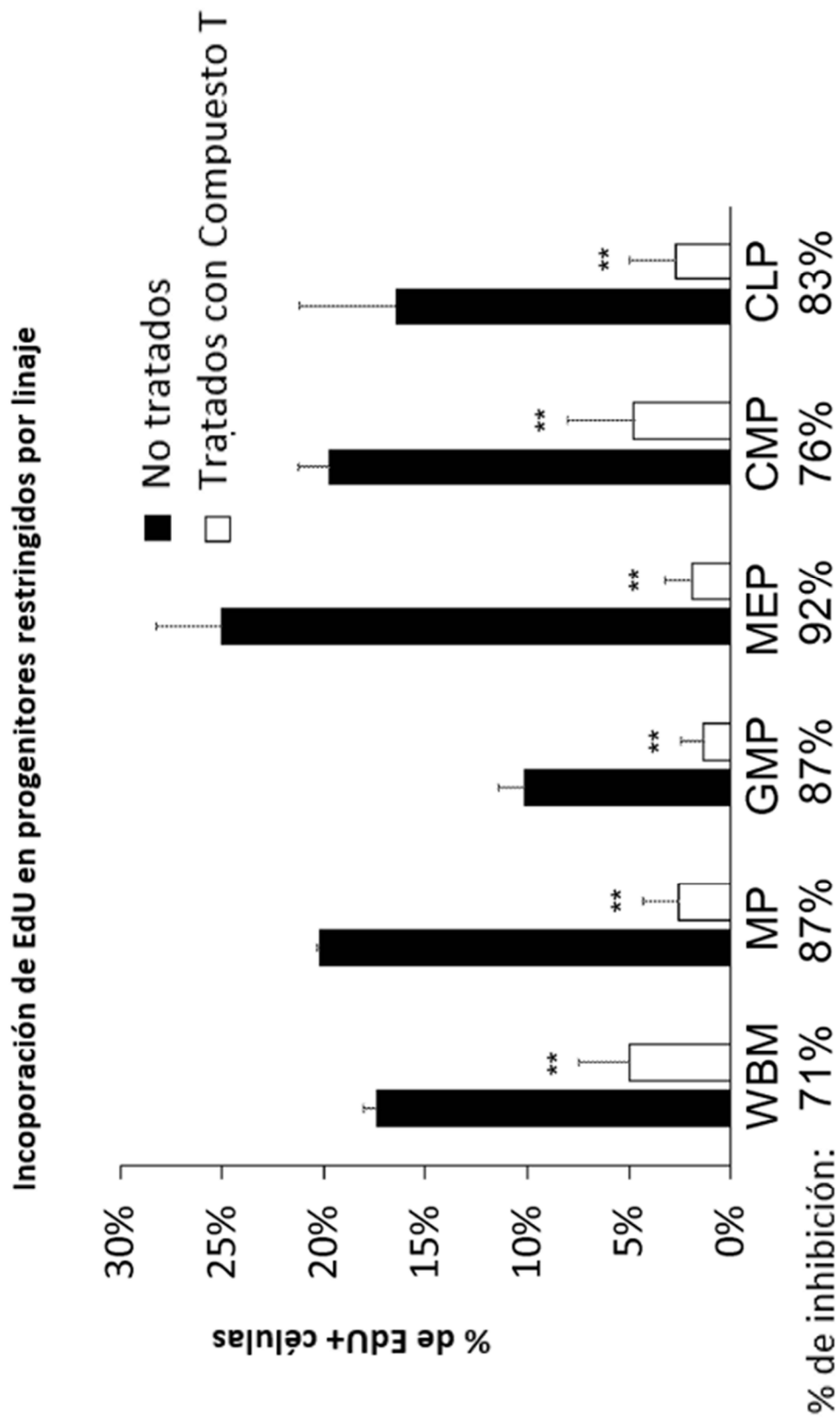


FIG. 14B

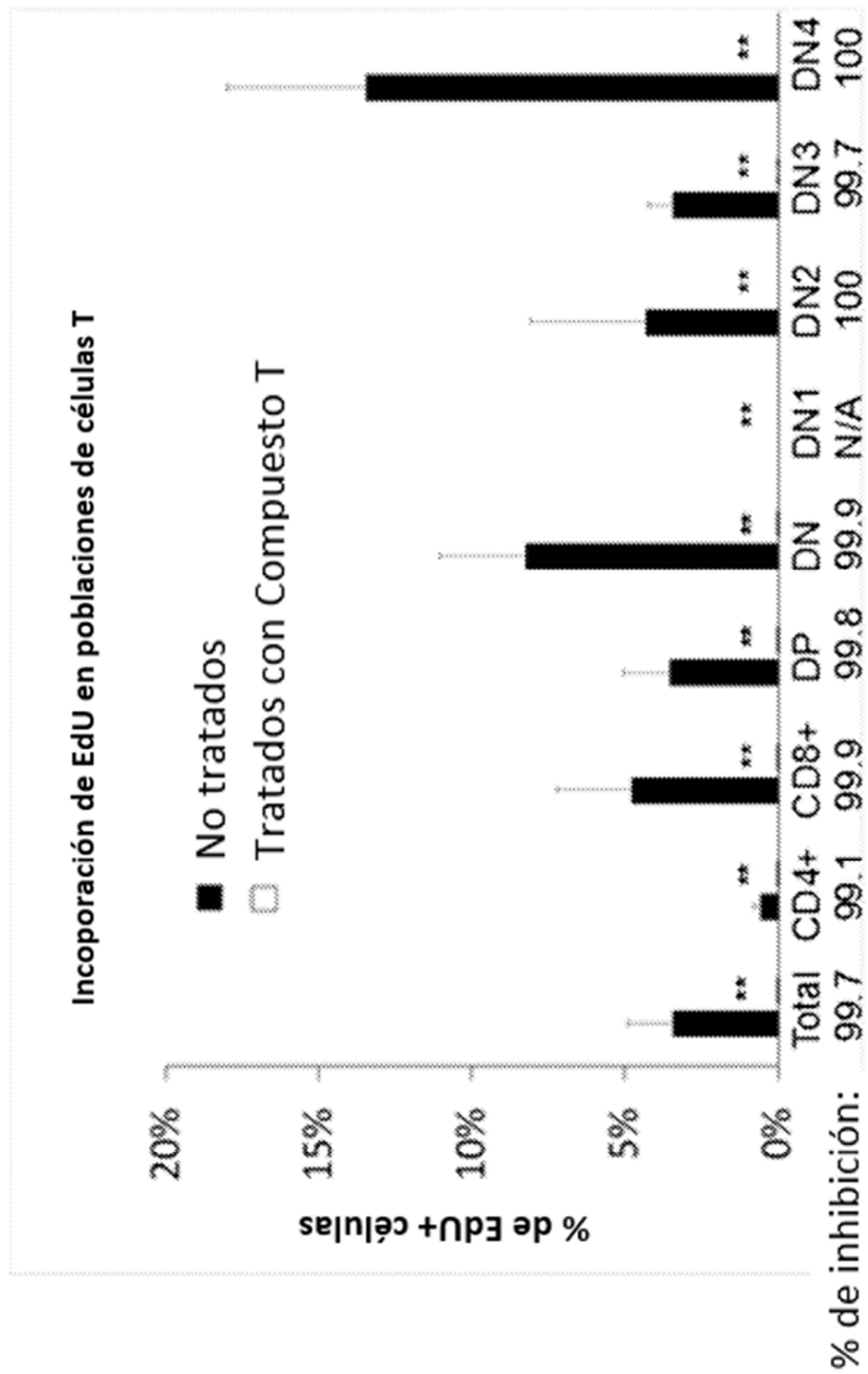


FIG. 15A

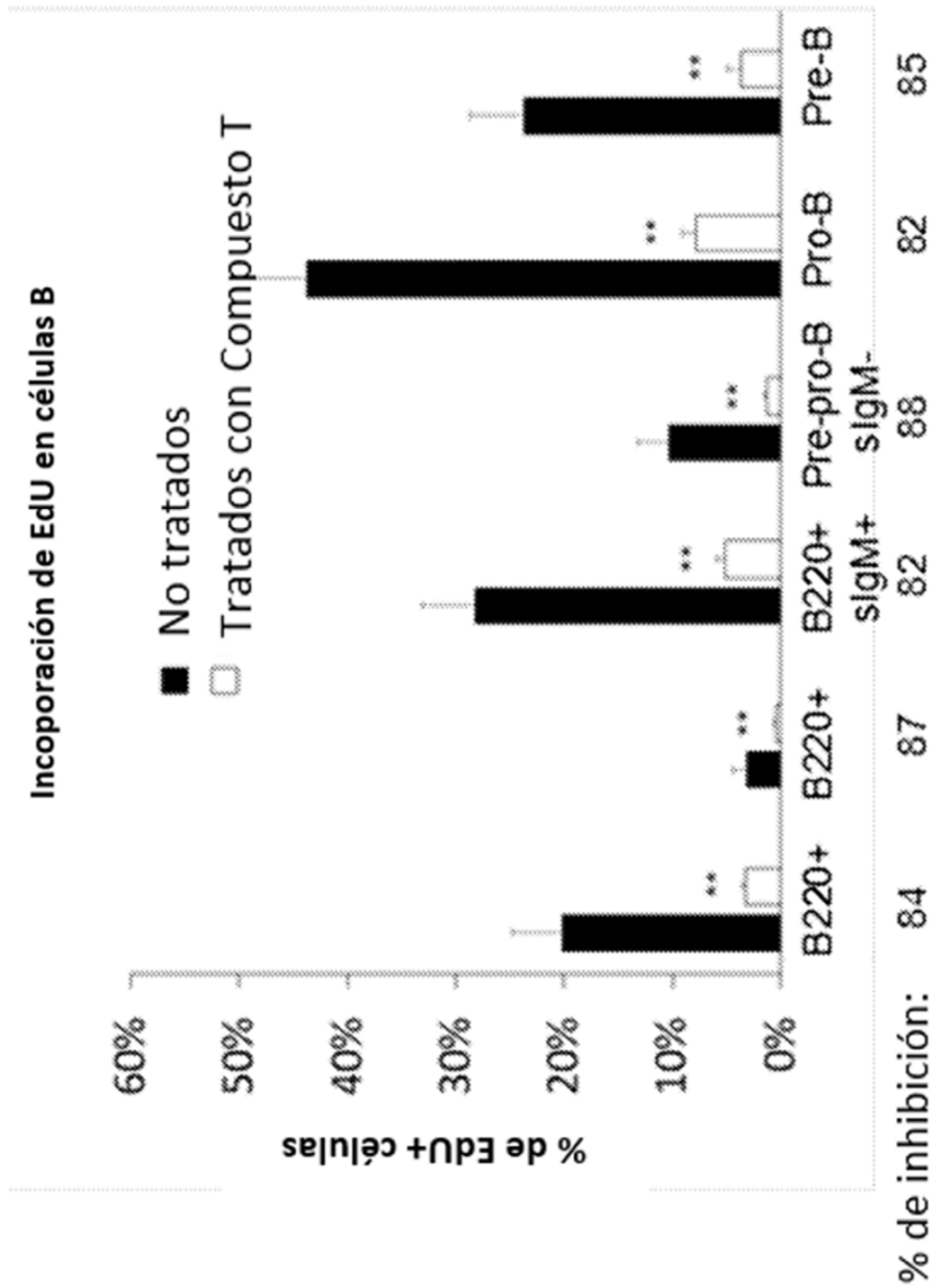


FIG. 15B

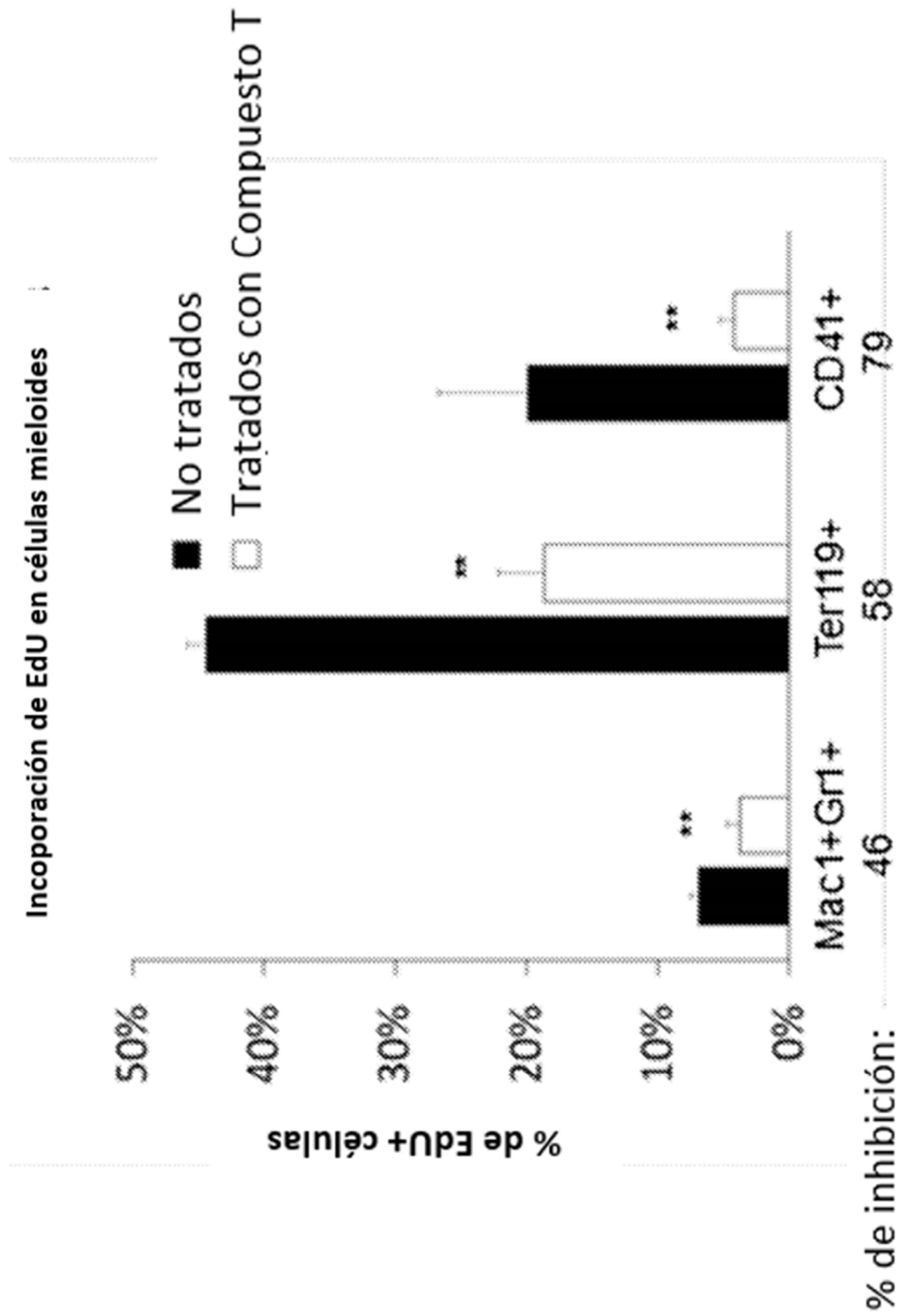


FIG. 15C

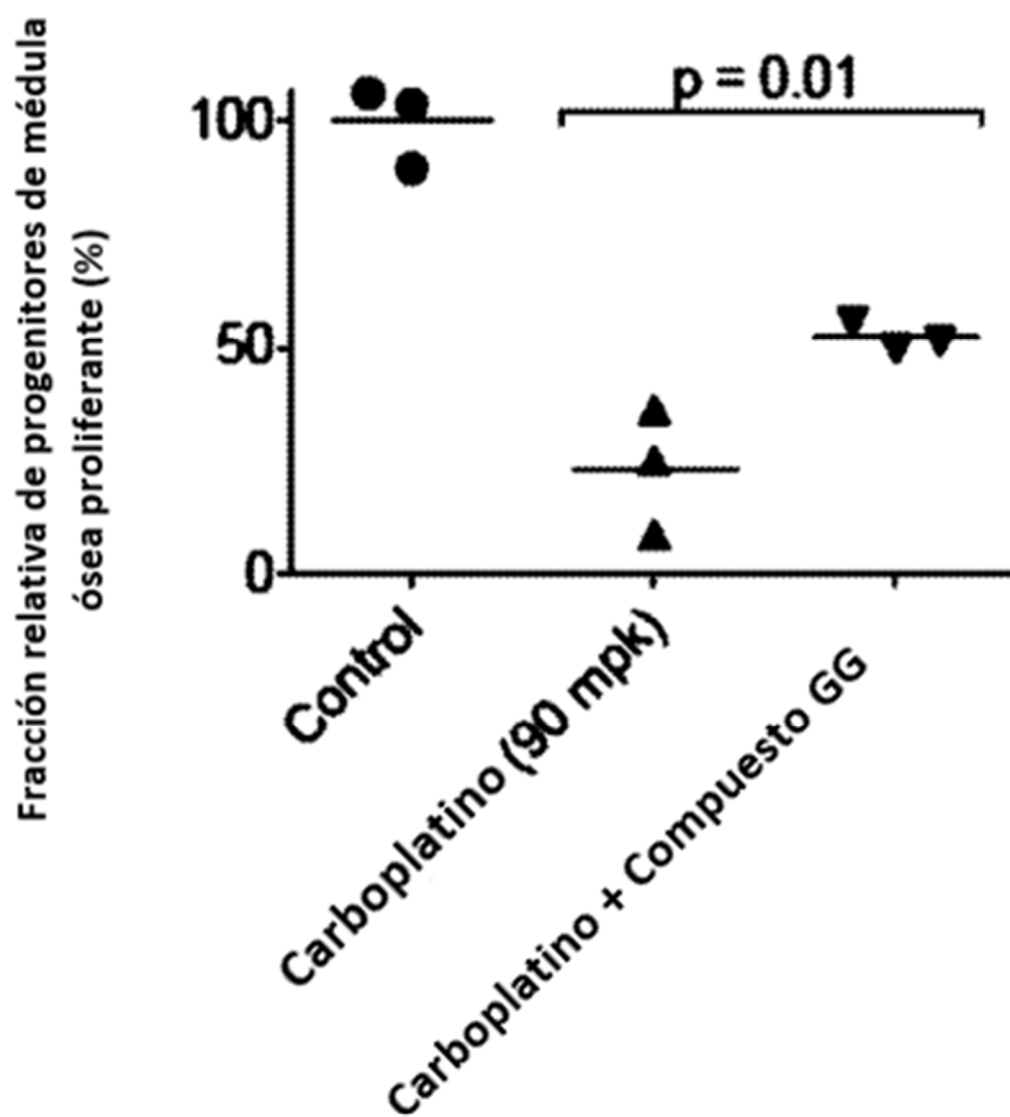


FIG. 16

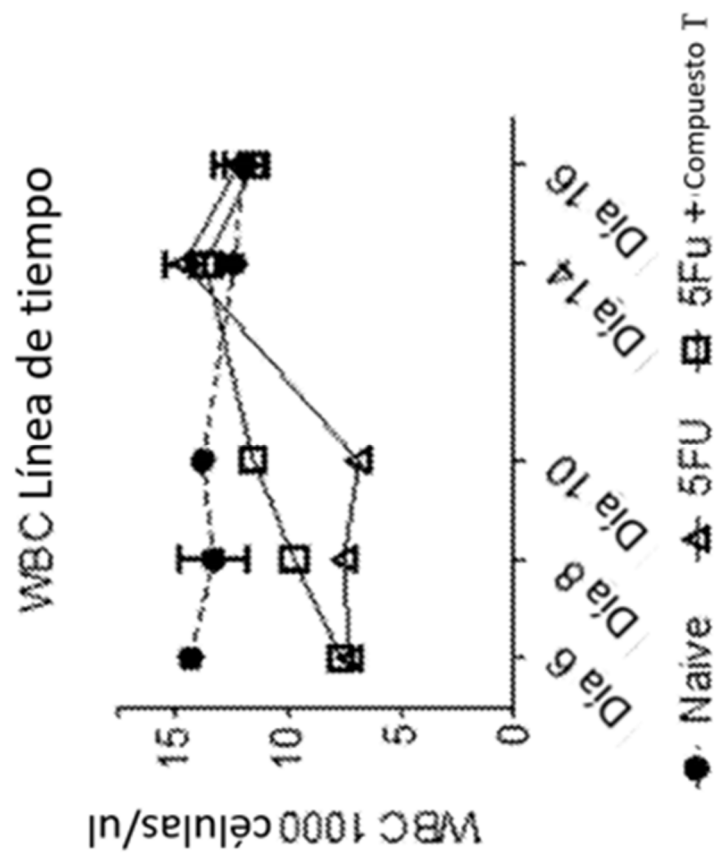


FIG. 17A

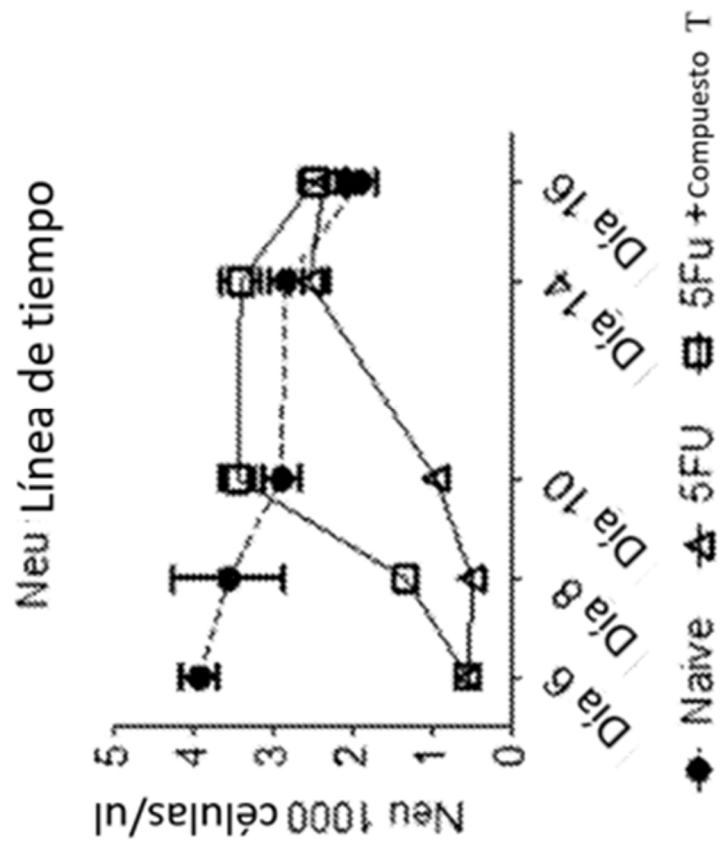


FIG. 17B

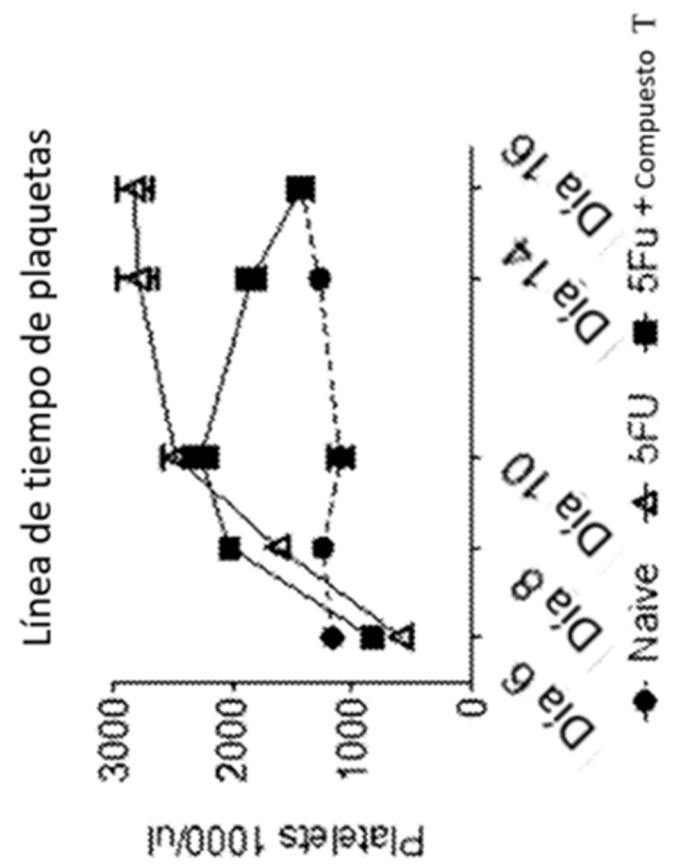


FIG. 17D

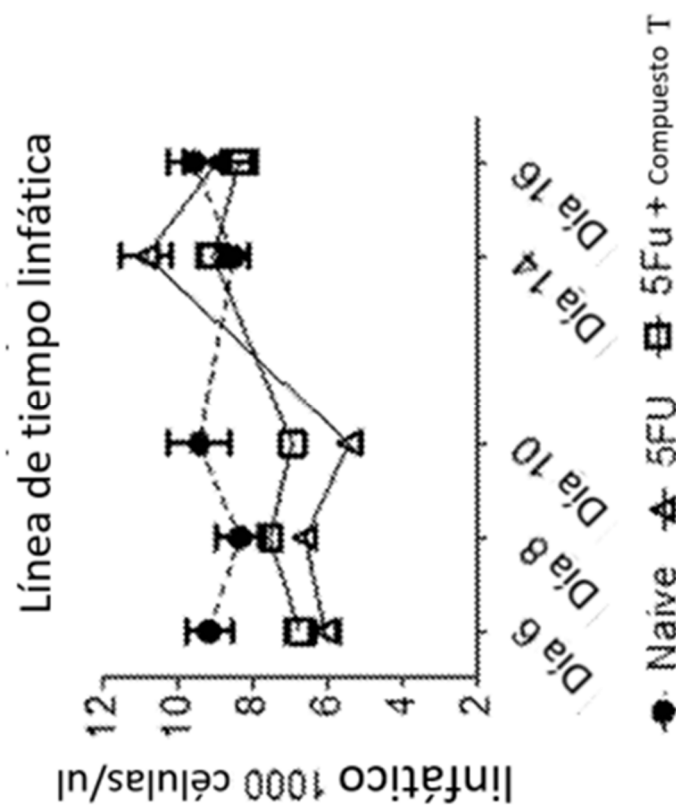


FIG. 17C

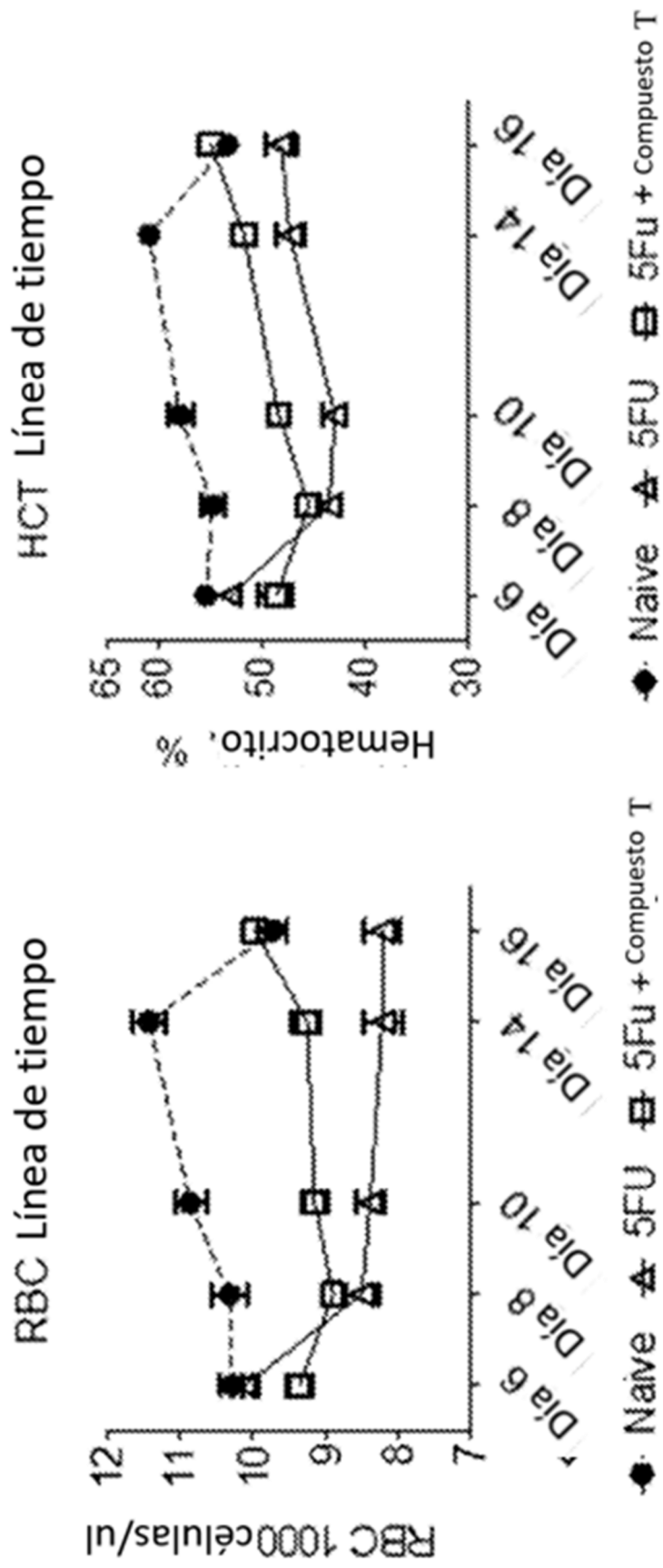
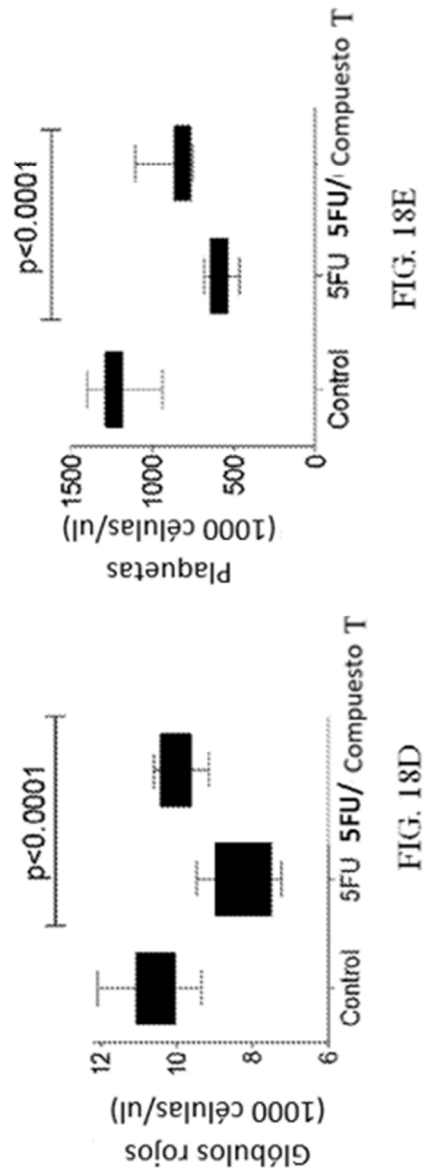
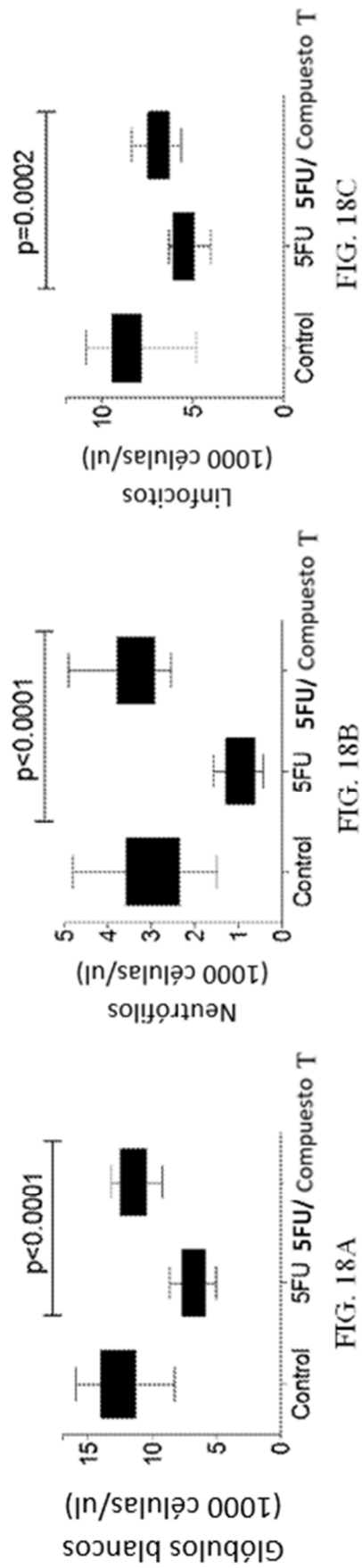


FIG. 17E

FIG. 17F



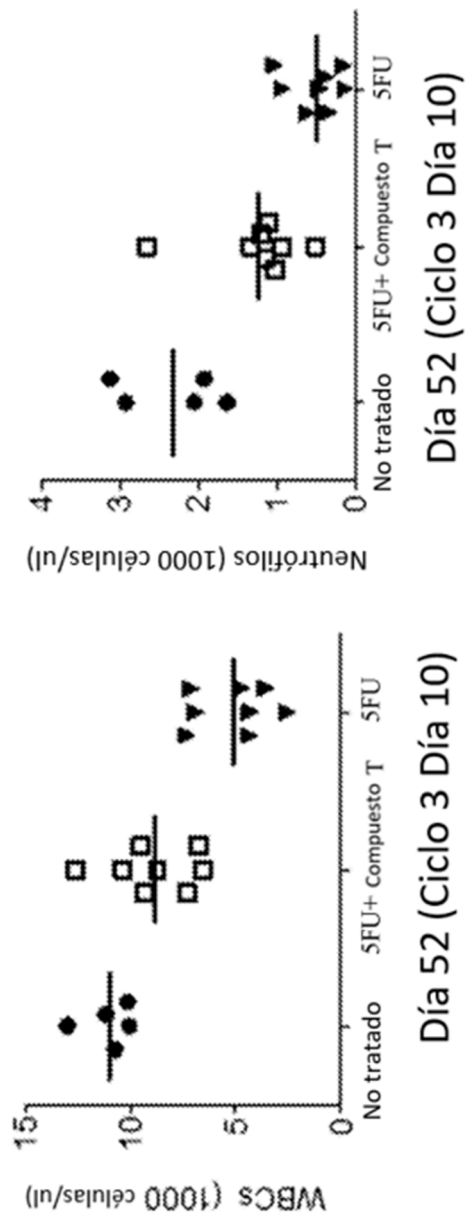


FIG. 19A

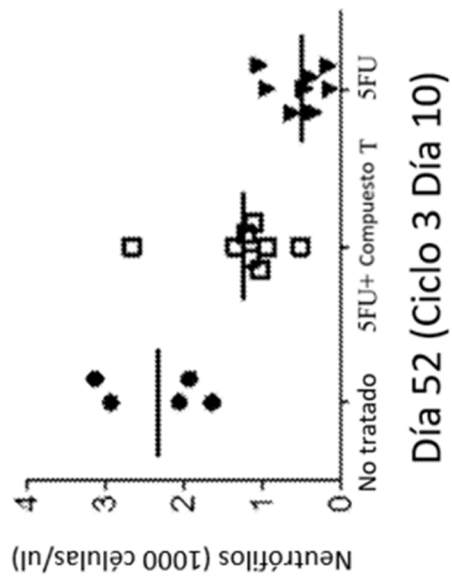


FIG. 19B

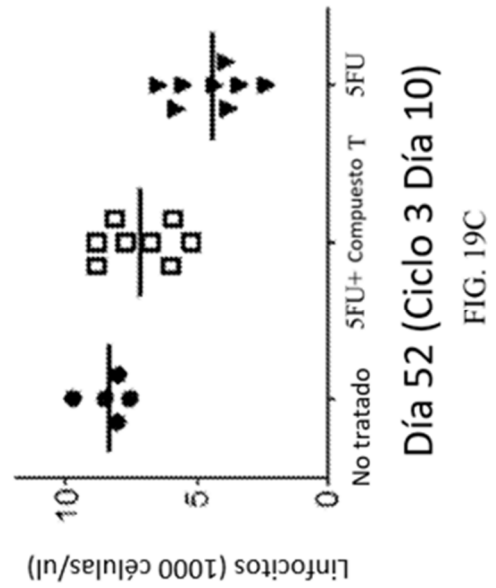


FIG. 19C

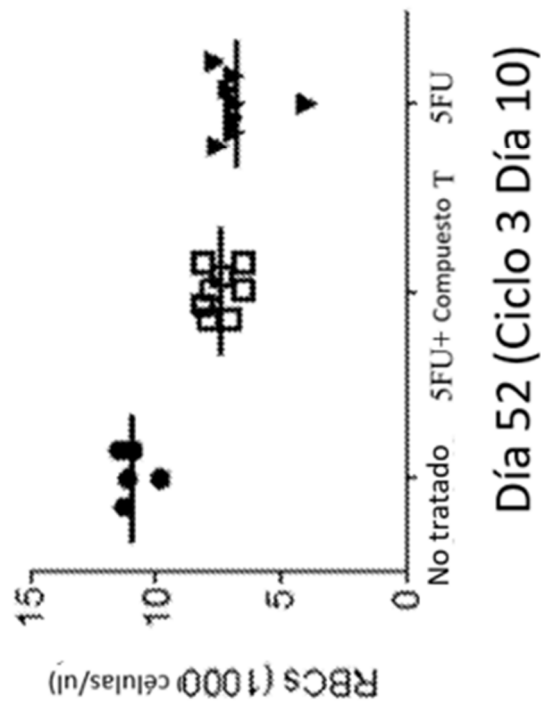


FIG. 19D

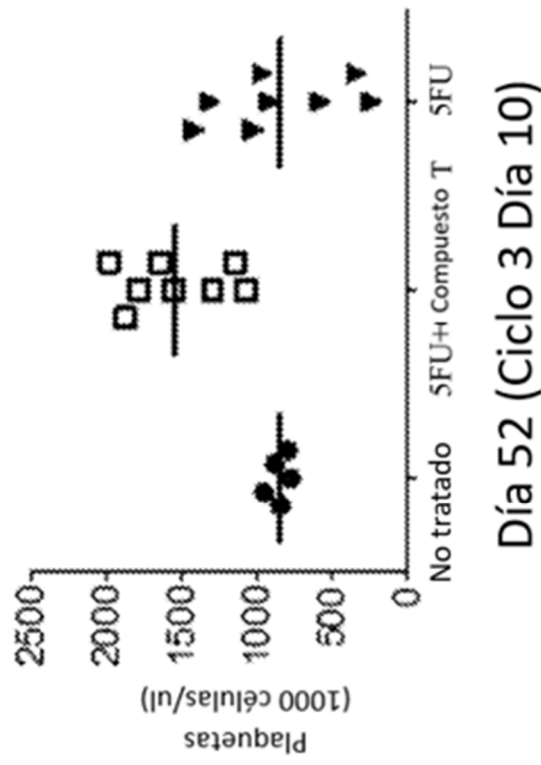


FIG. 19E

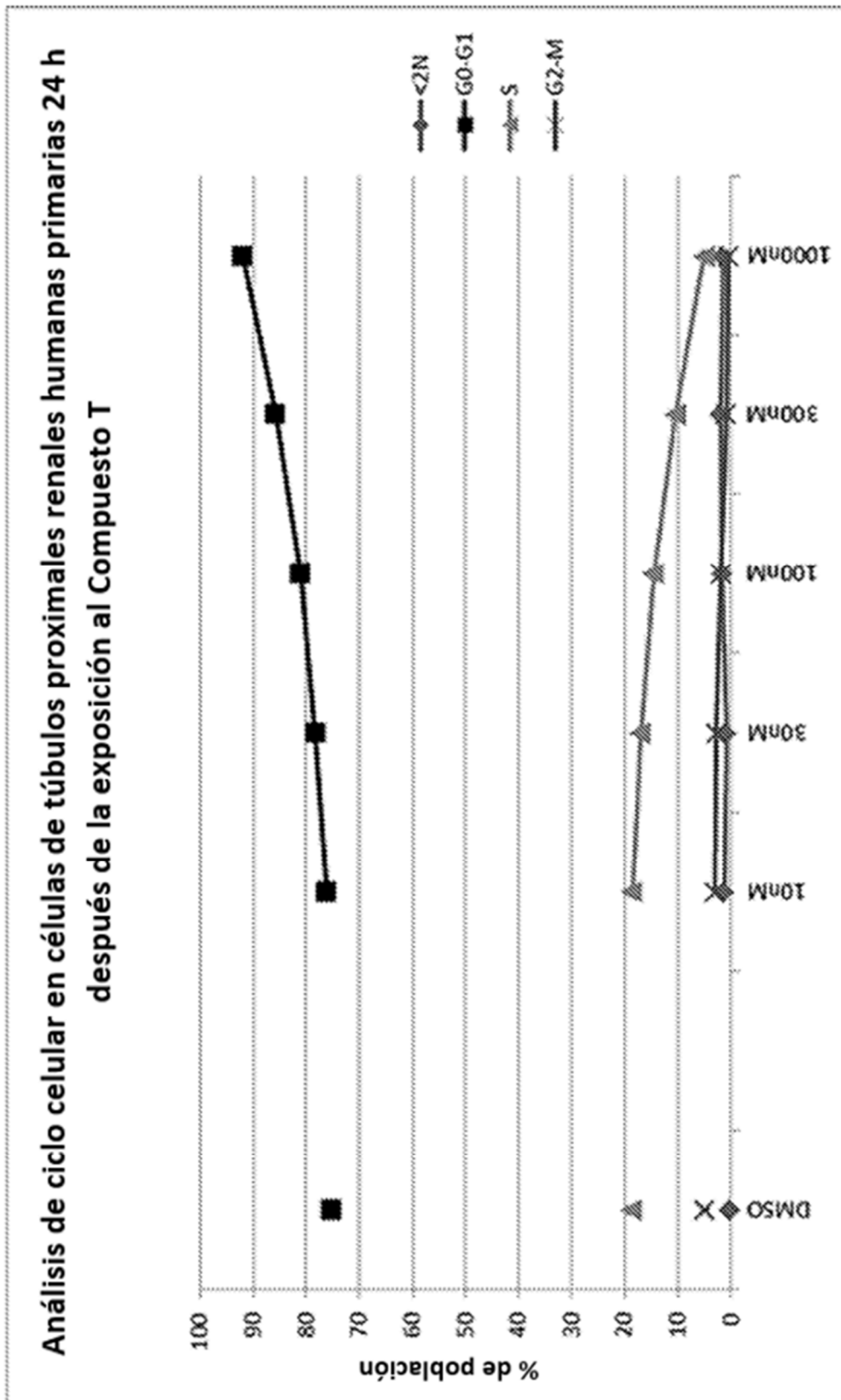


FIG. 20

Compuesto T protege células epiteliales de túbulo proximales renales del daño al ADN

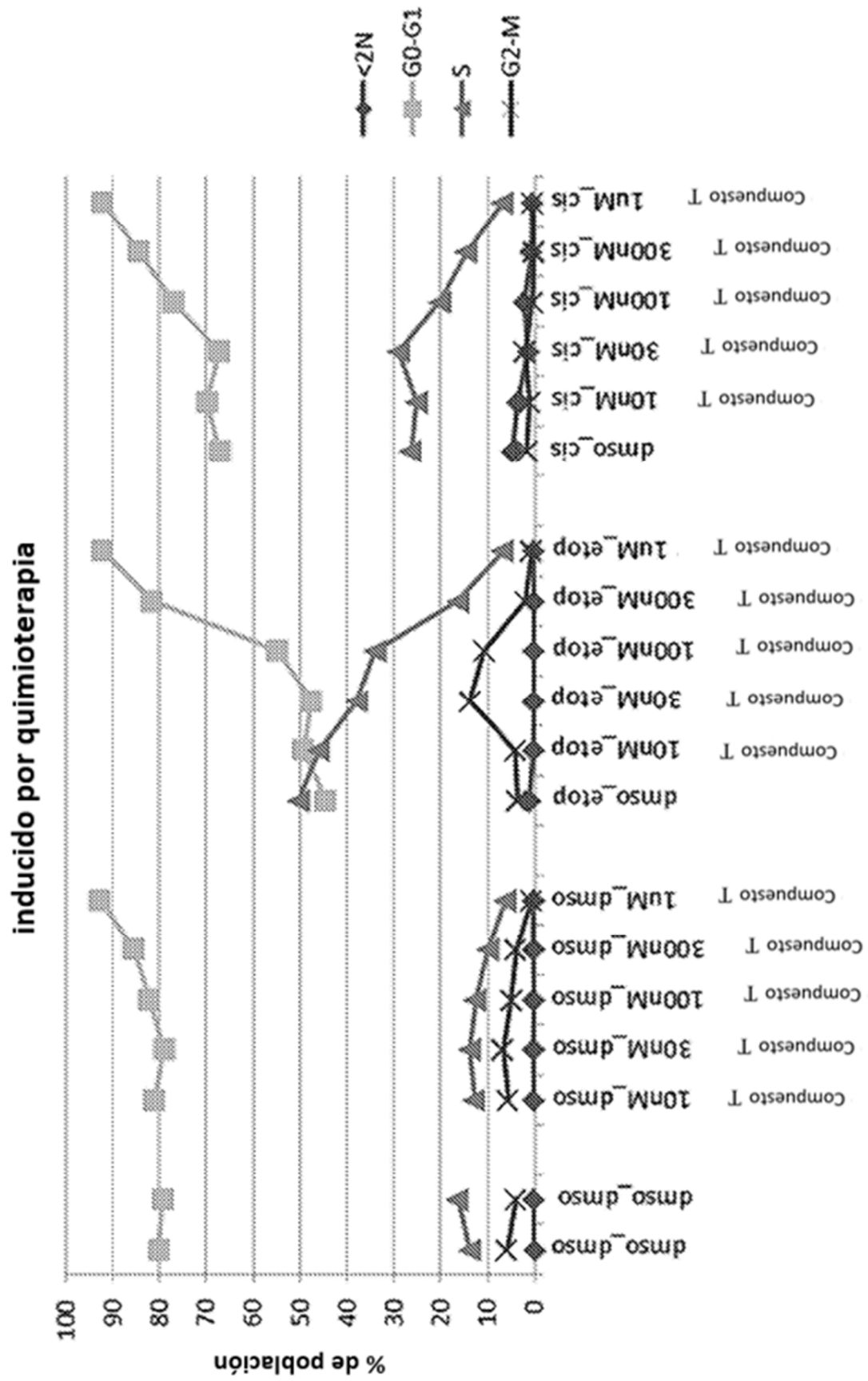


FIG. 21

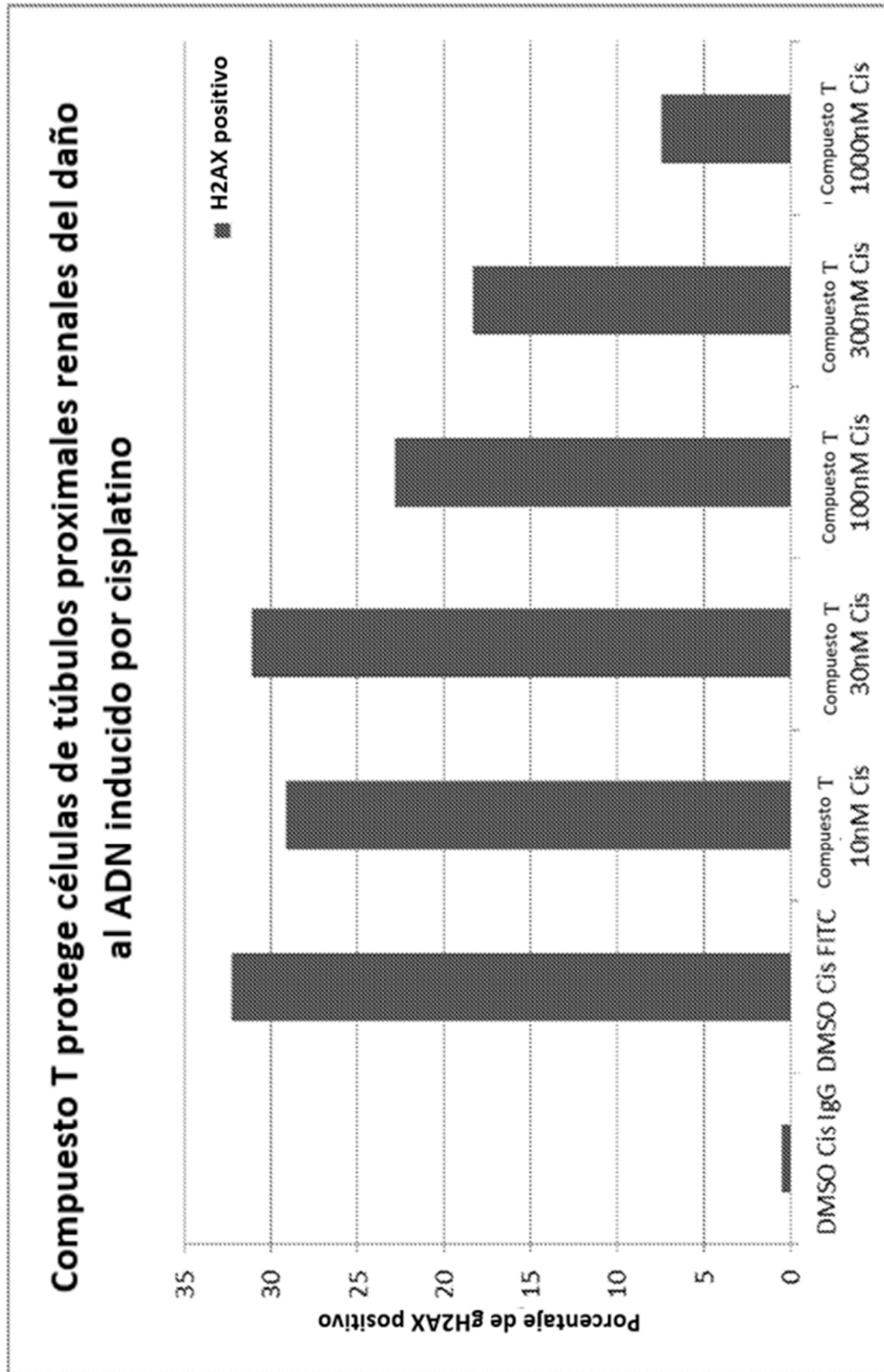


FIG. 22

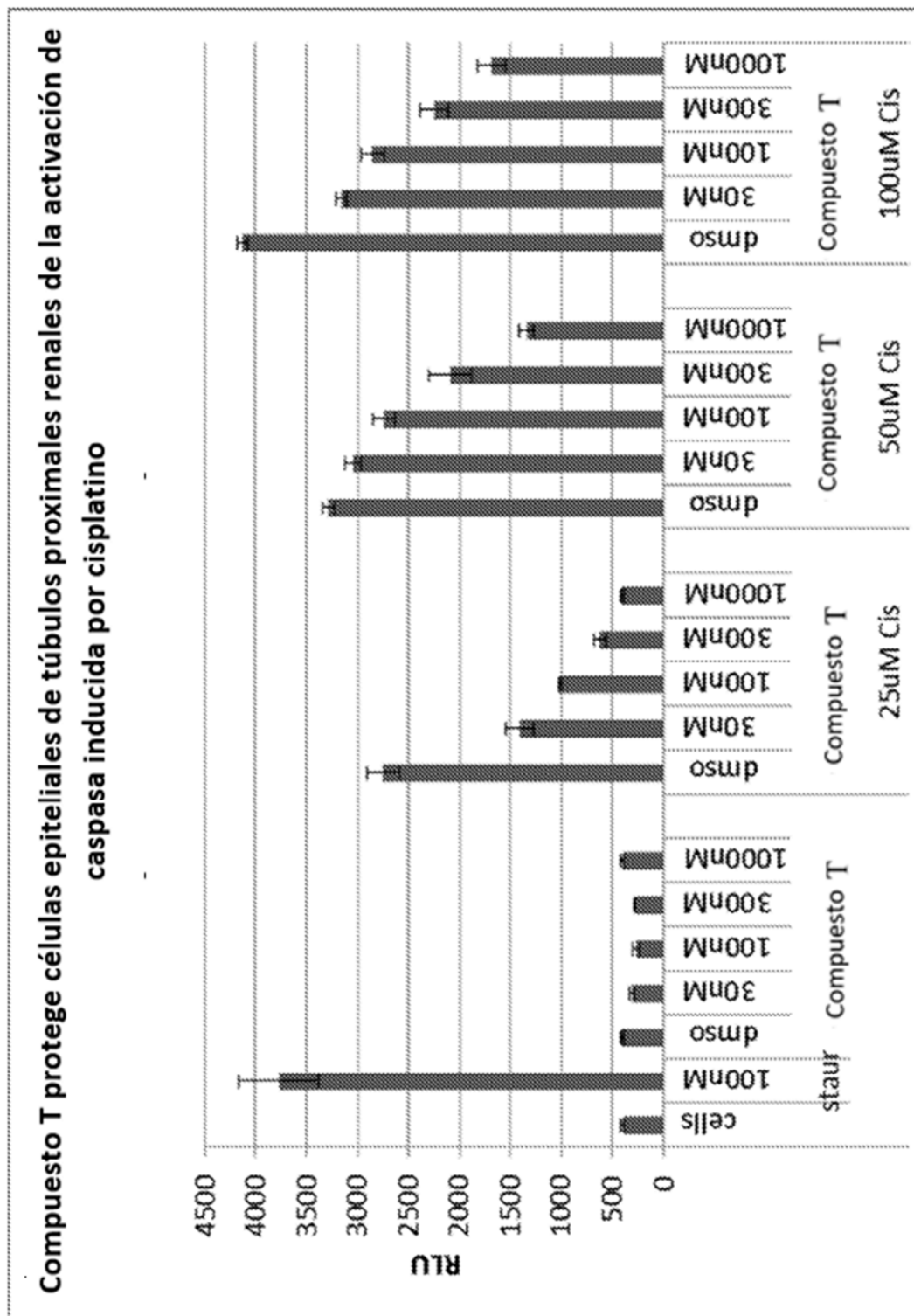


FIG. 23

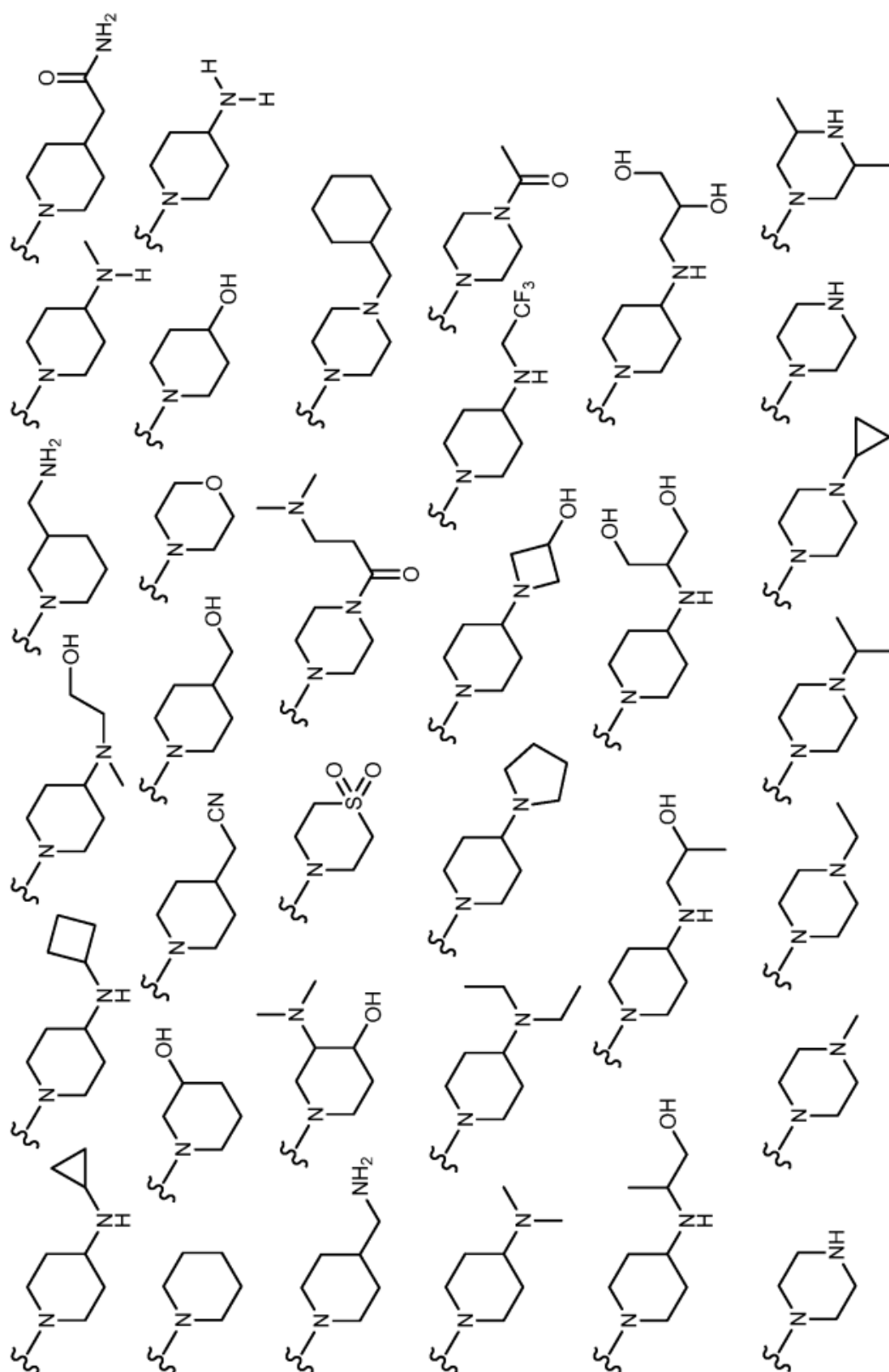


FIG. 24

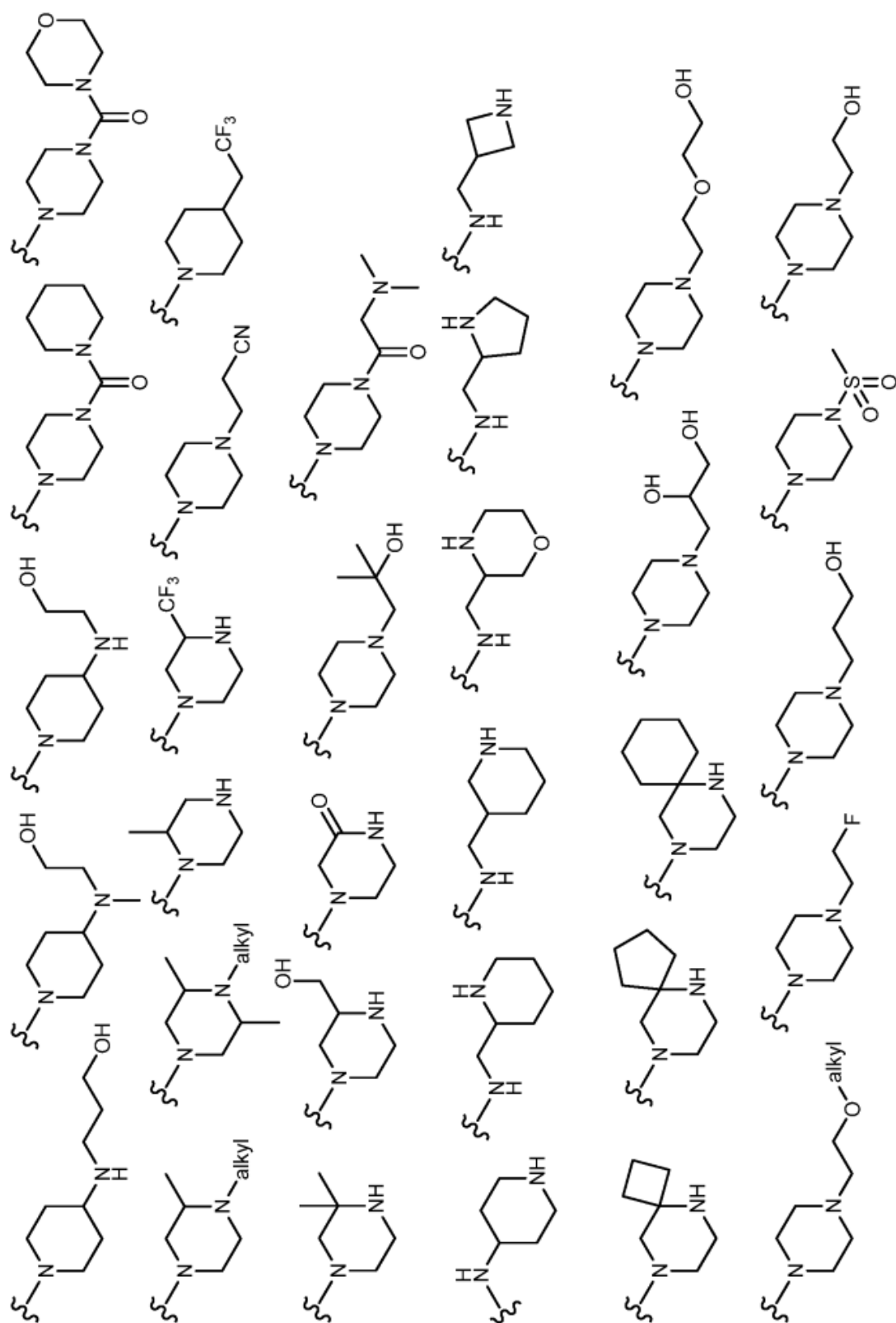


FIG. 25

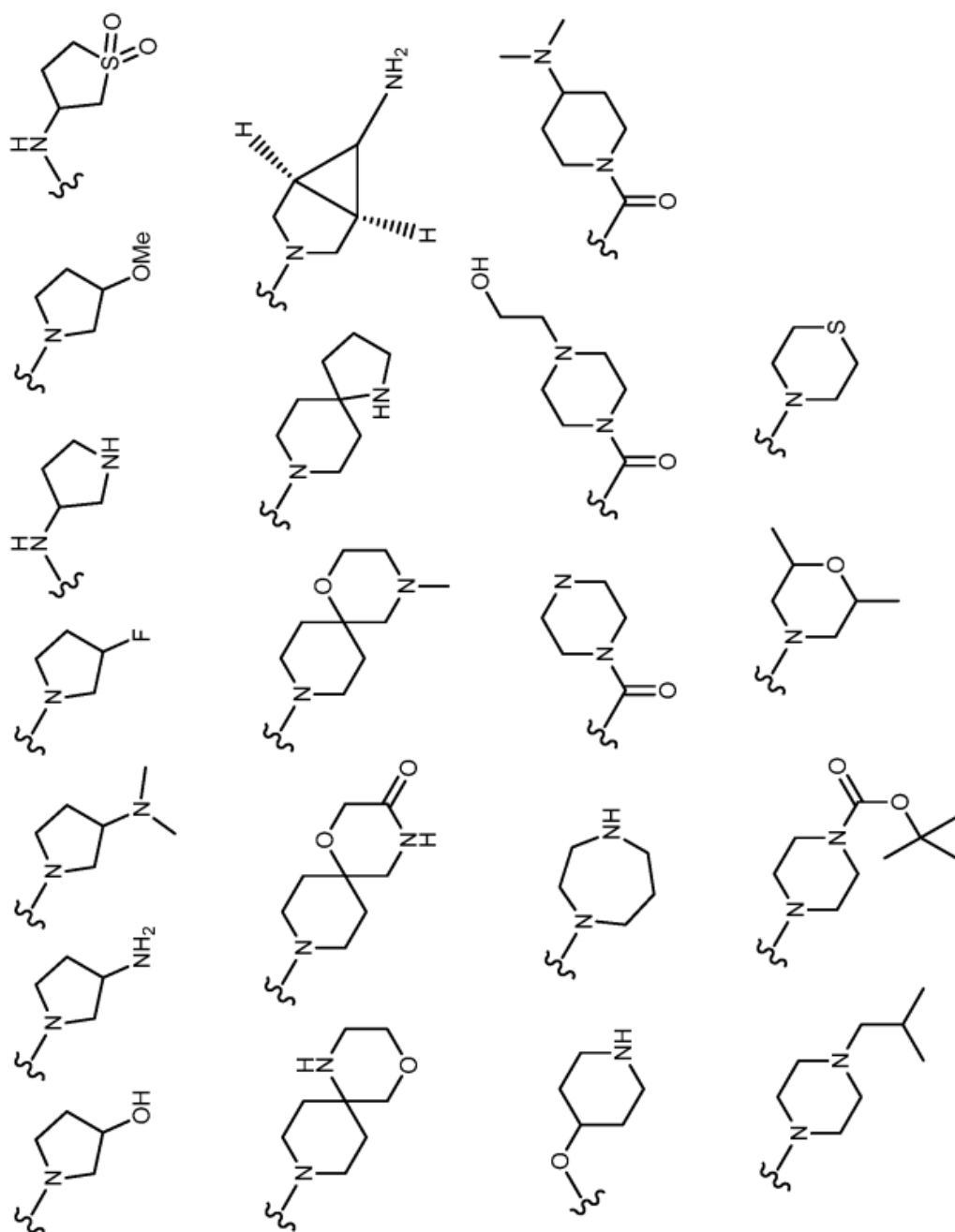


FIG. 26

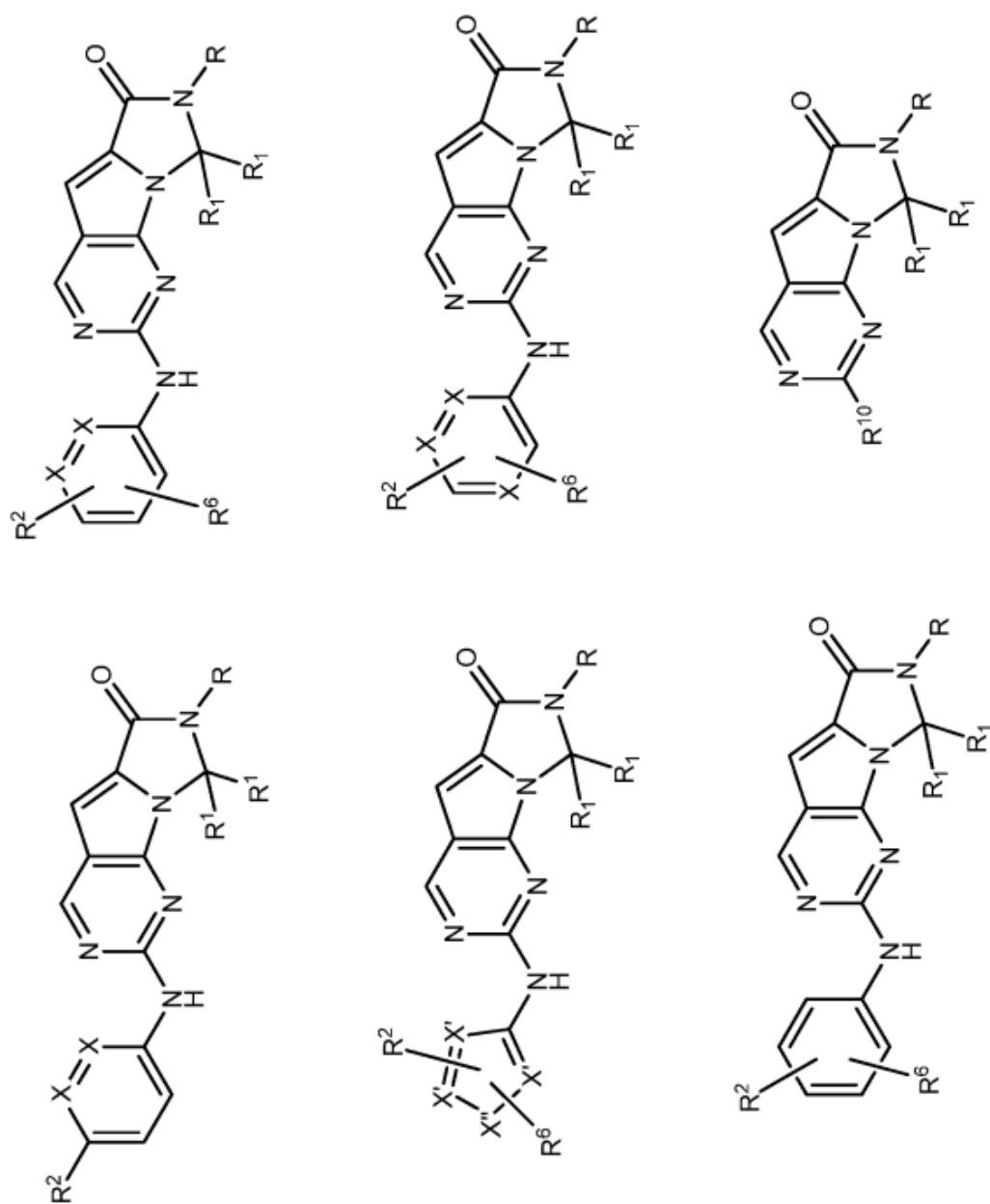


FIG. 27A

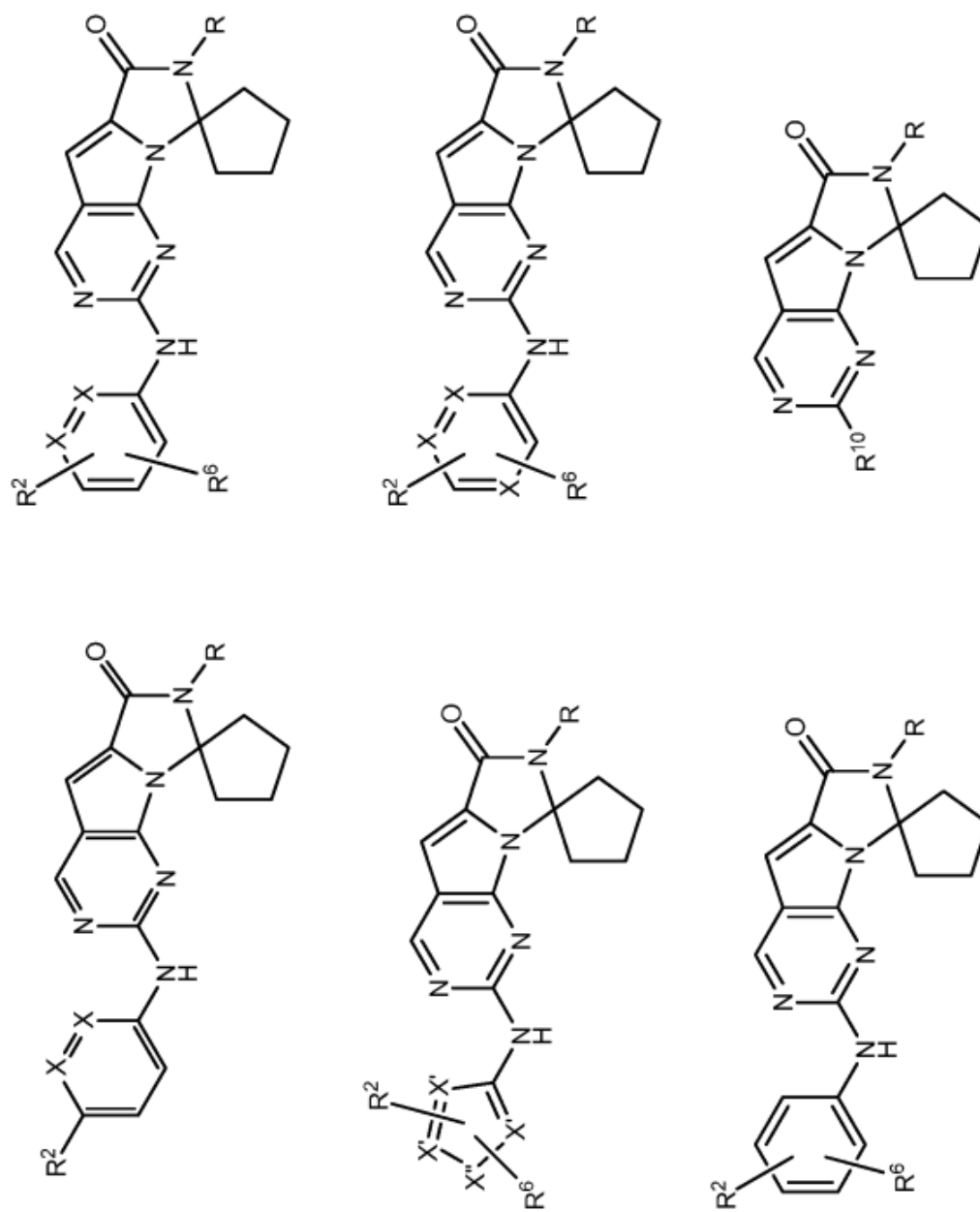


FIG. 27B

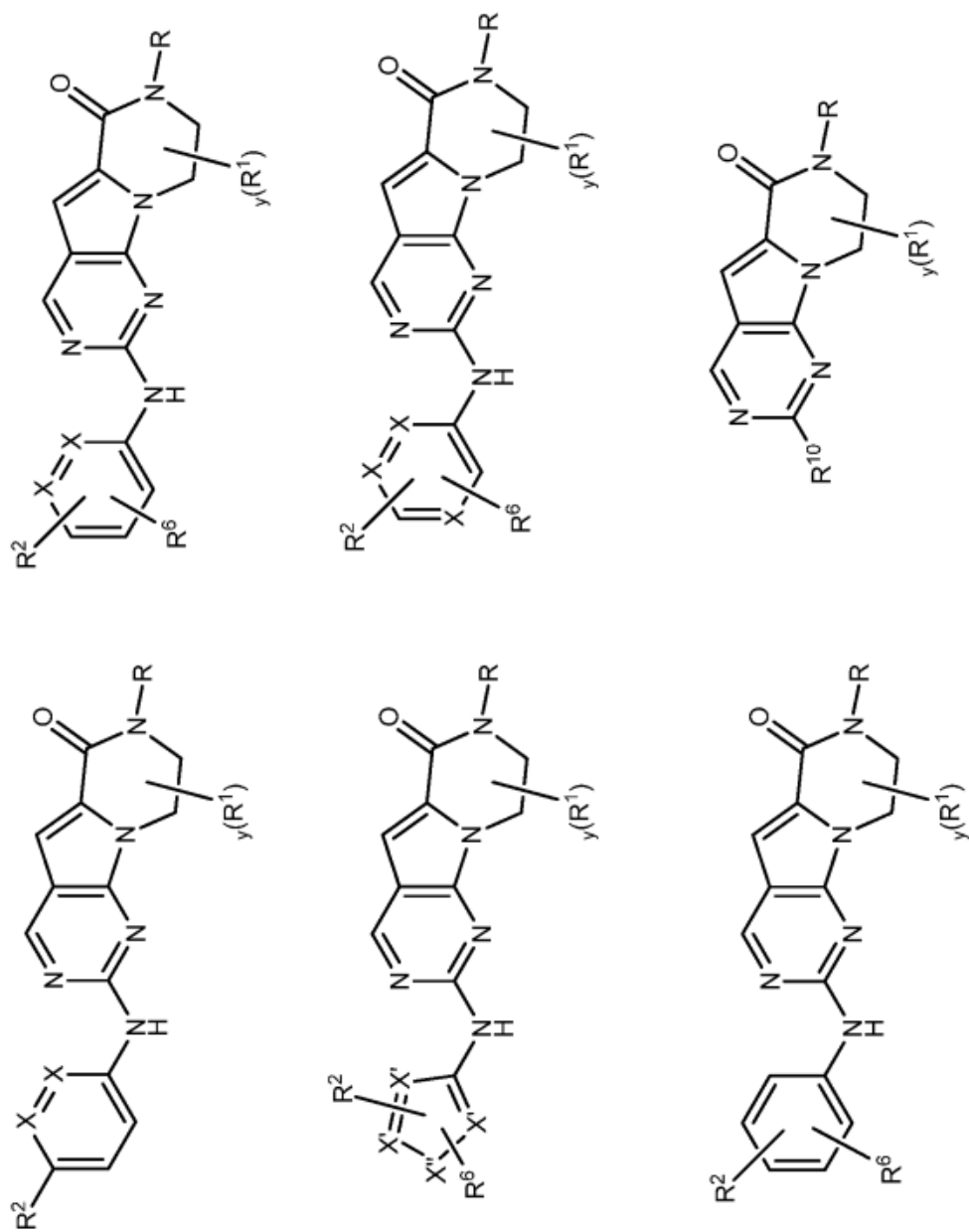


FIG. 28A

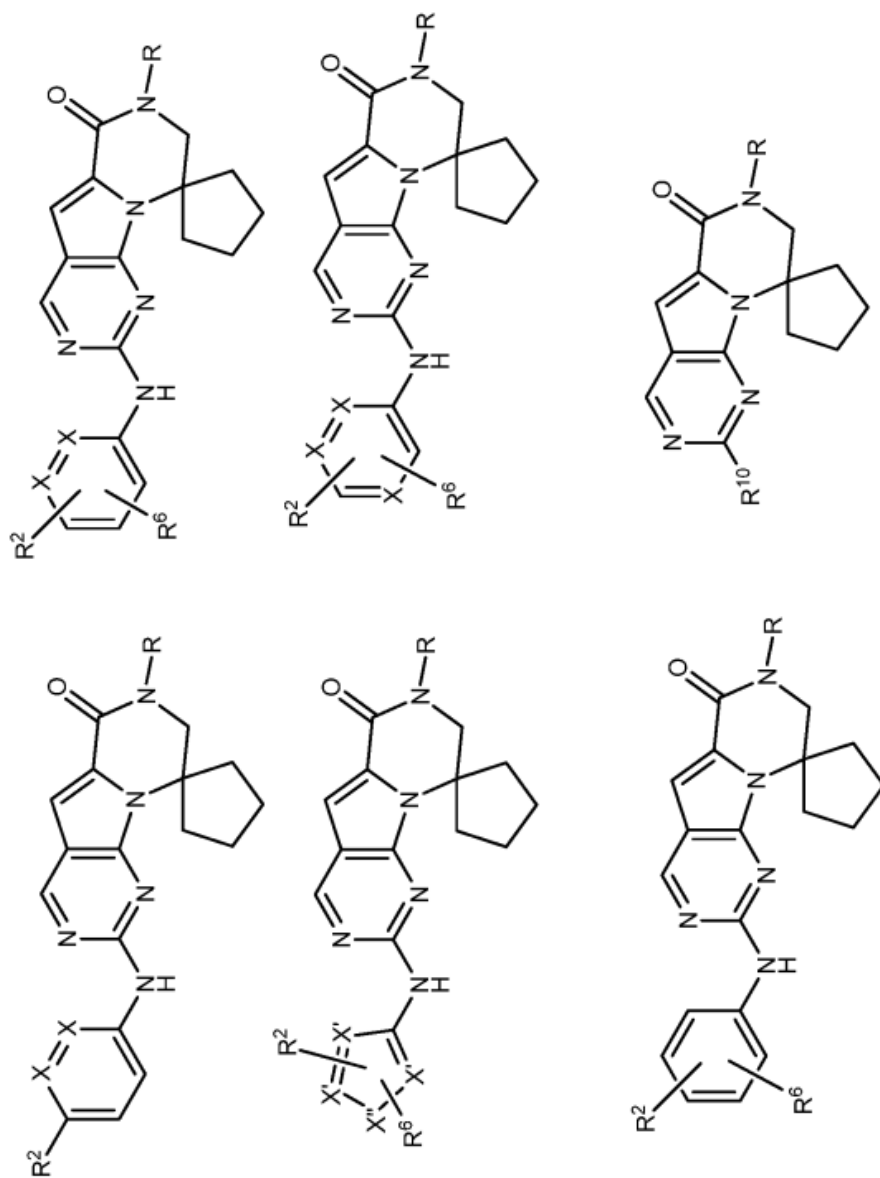


FIG. 28B

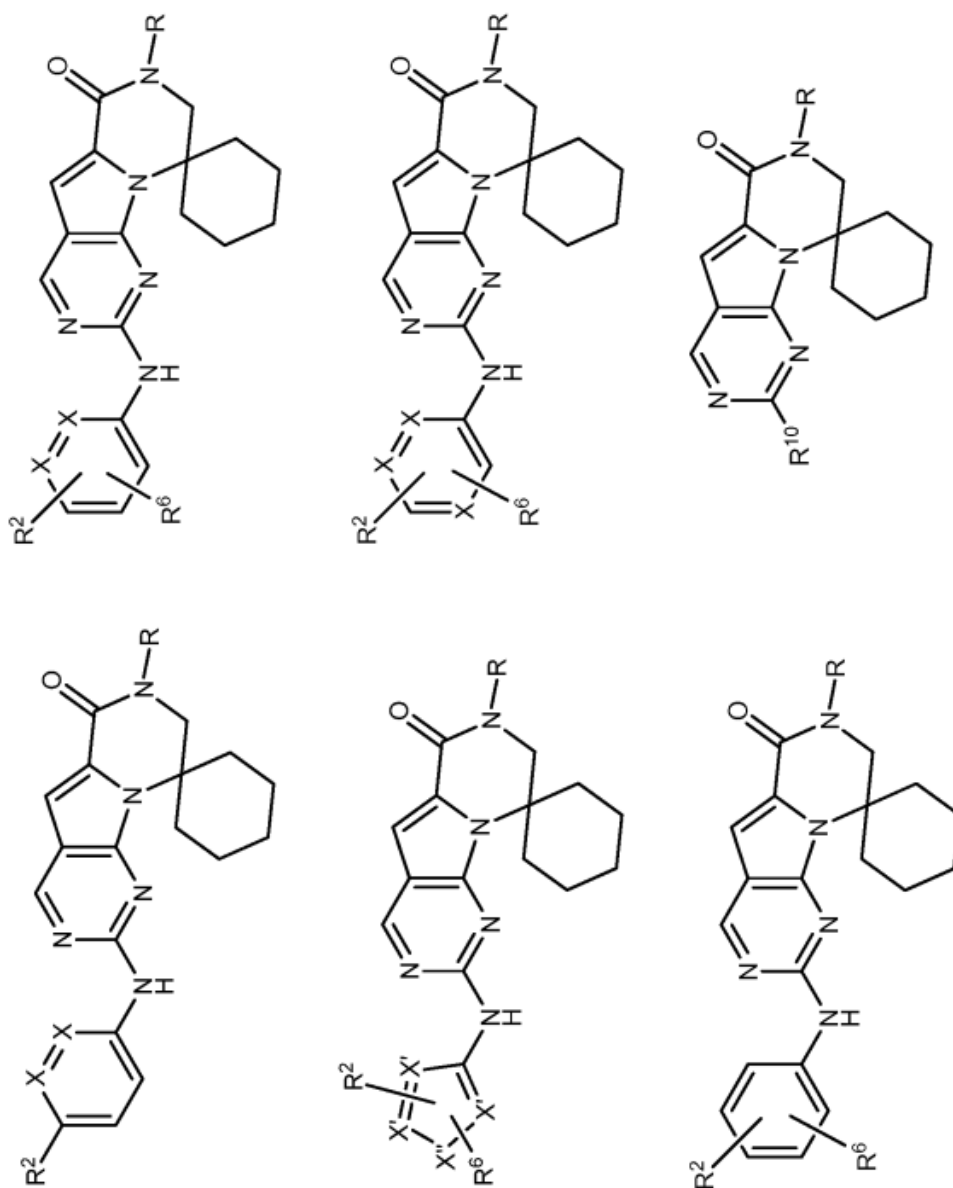


FIG. 28C

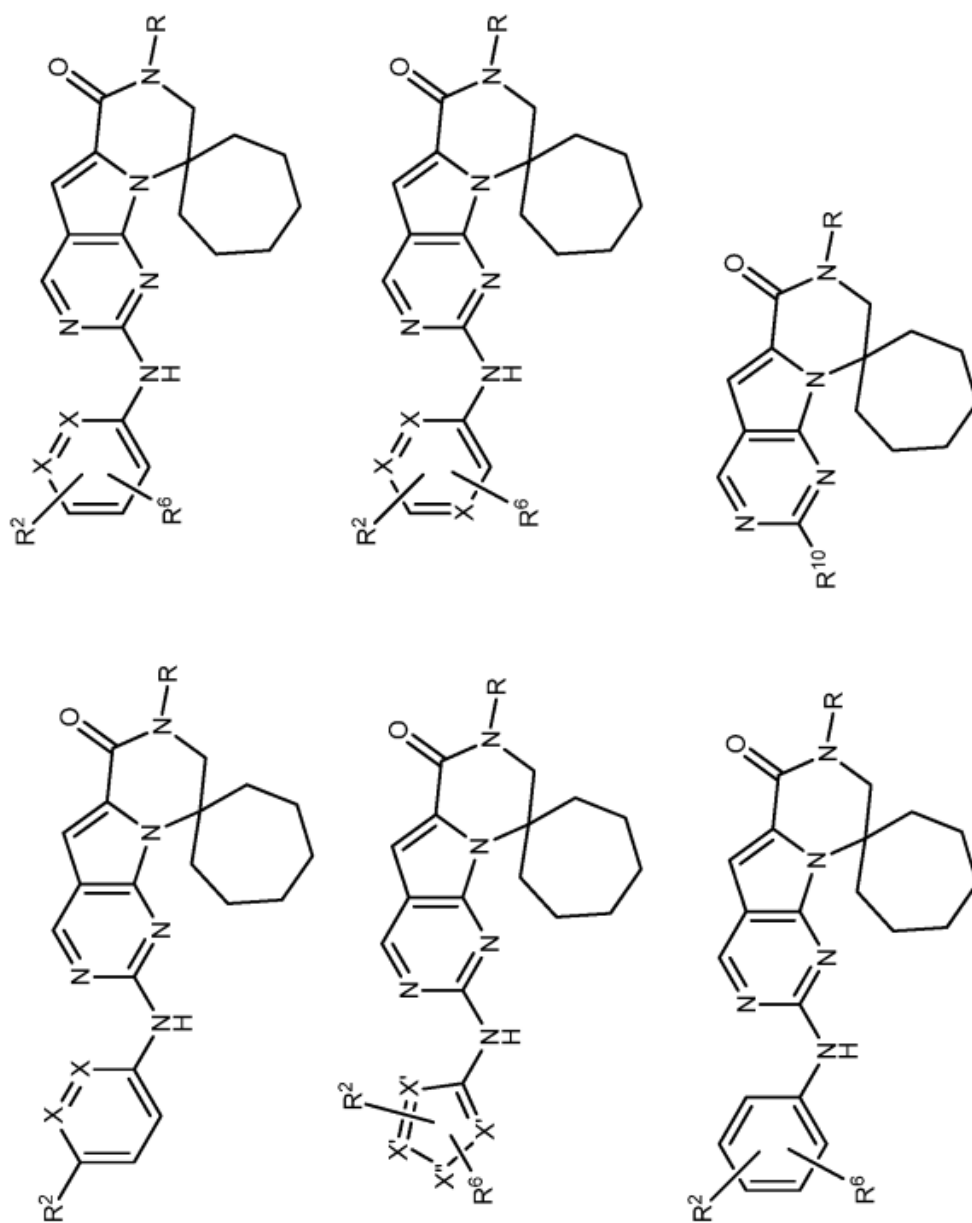


FIG. 28D

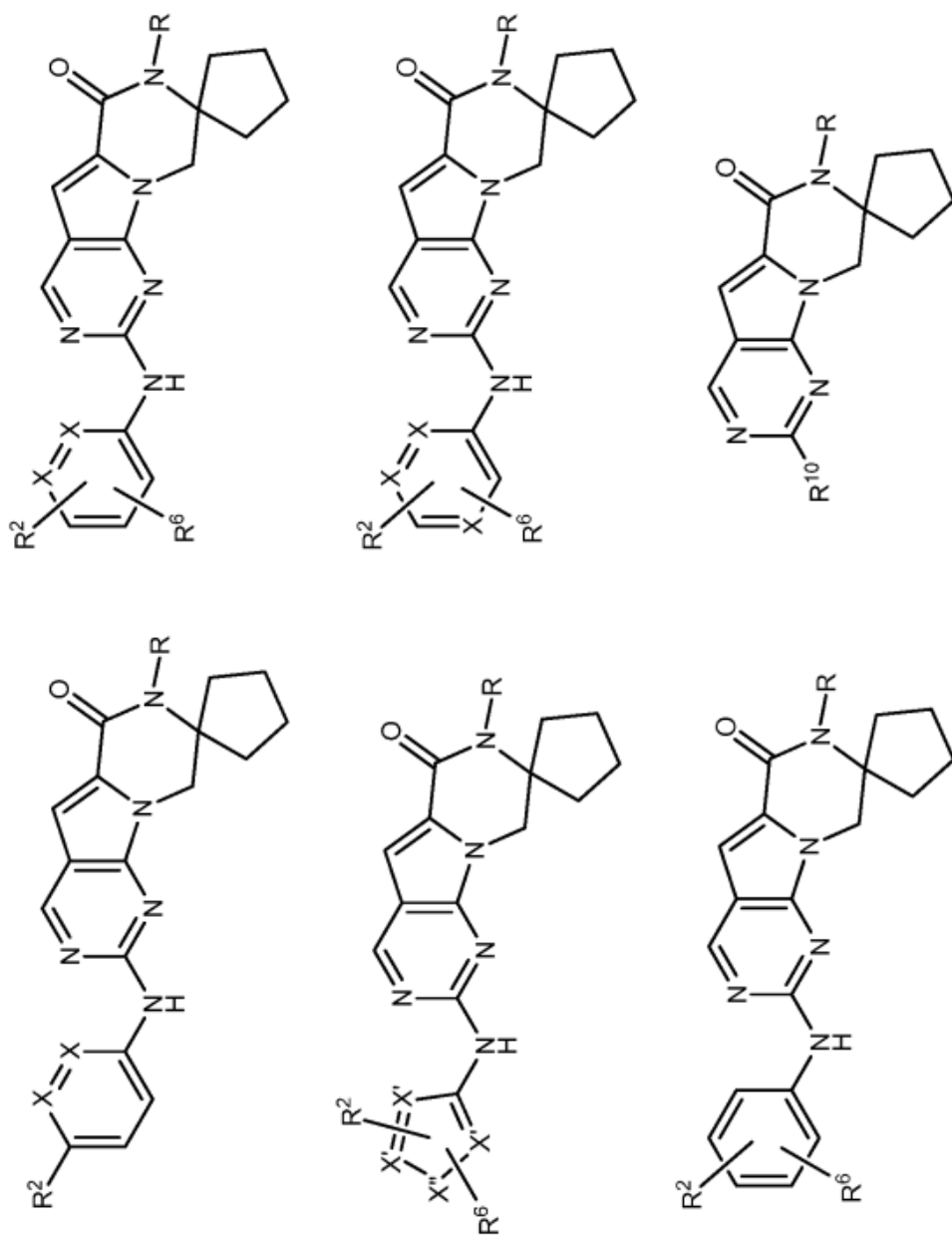


FIG. 29A

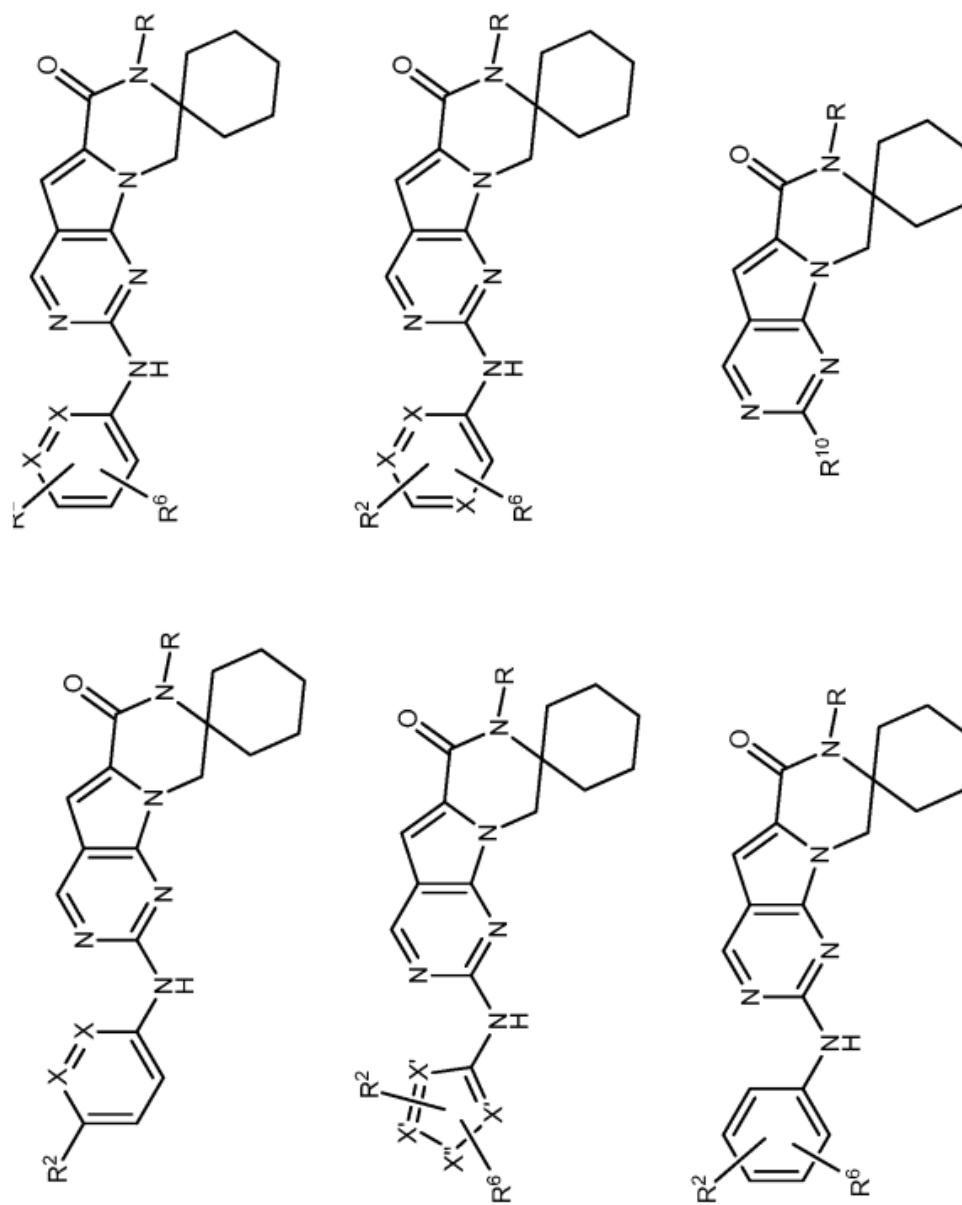


FIG. 29B

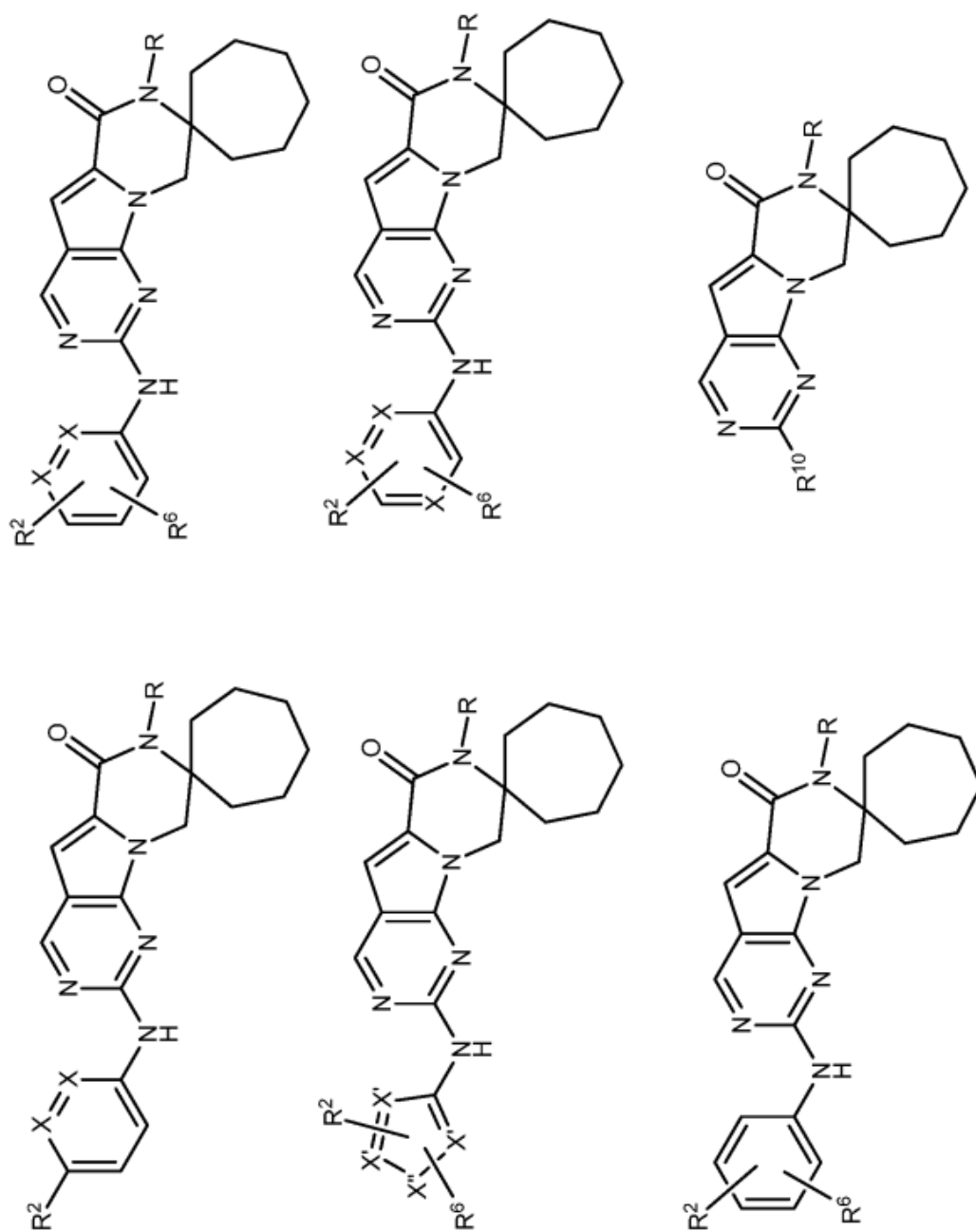


FIG. 29C

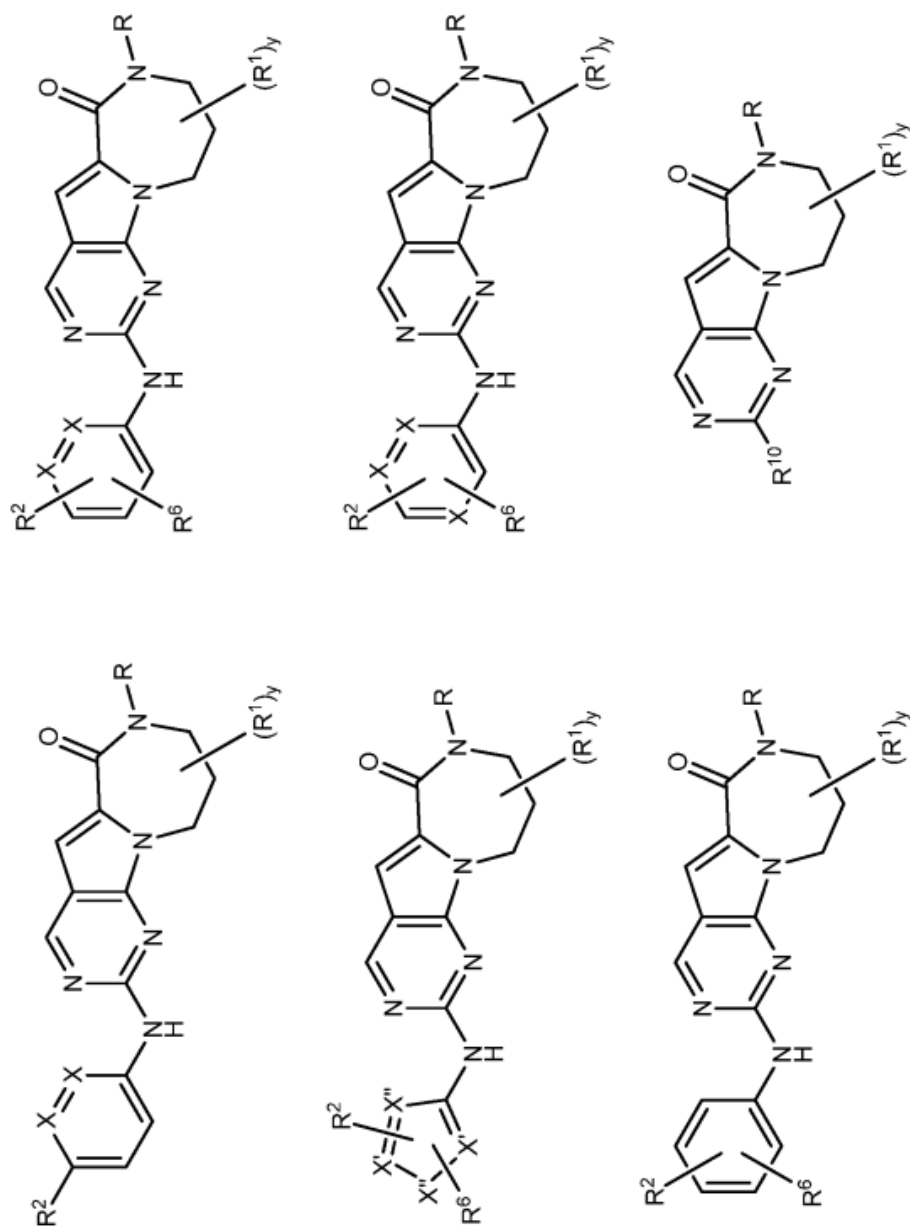


FIG. 30A

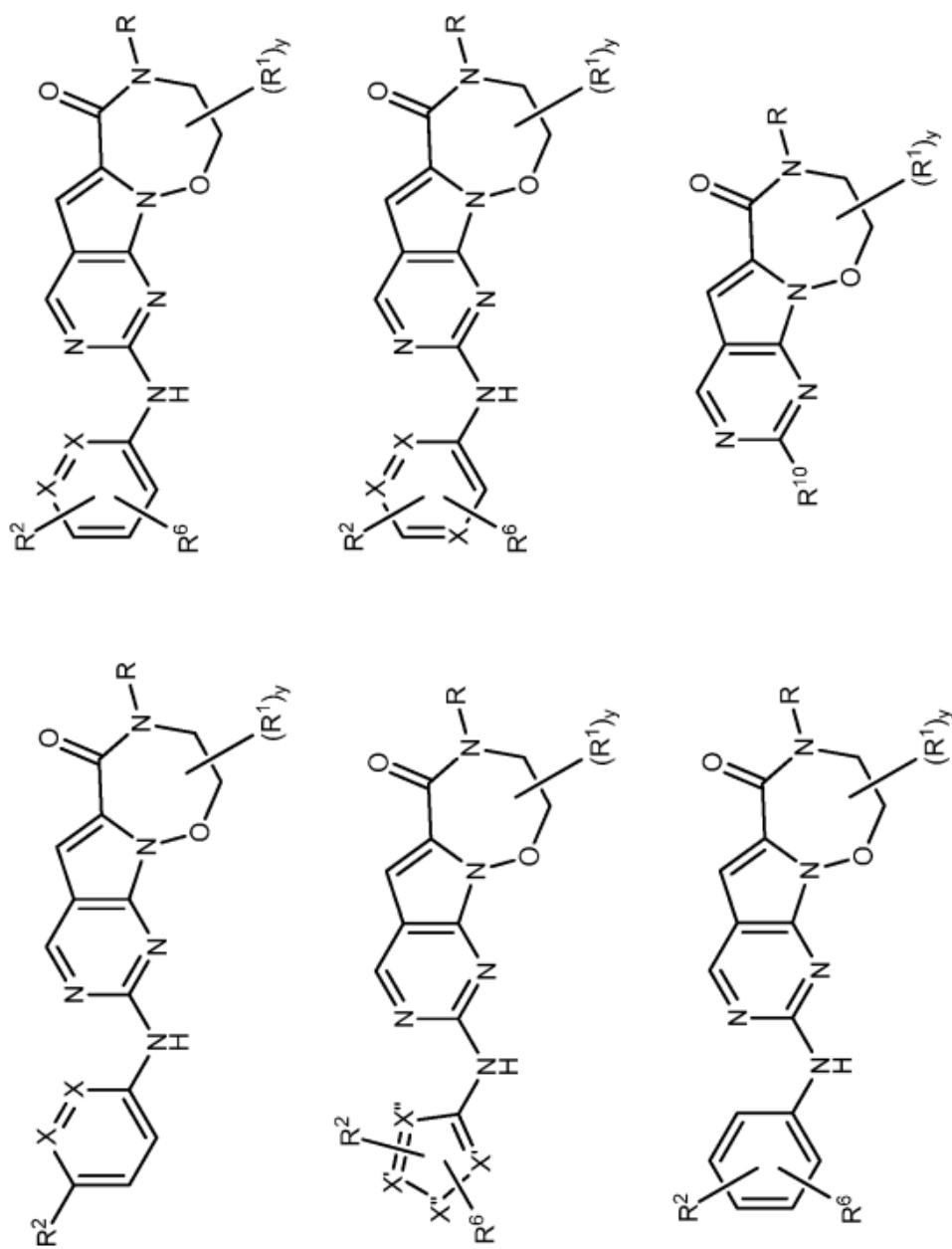


FIG. 30B

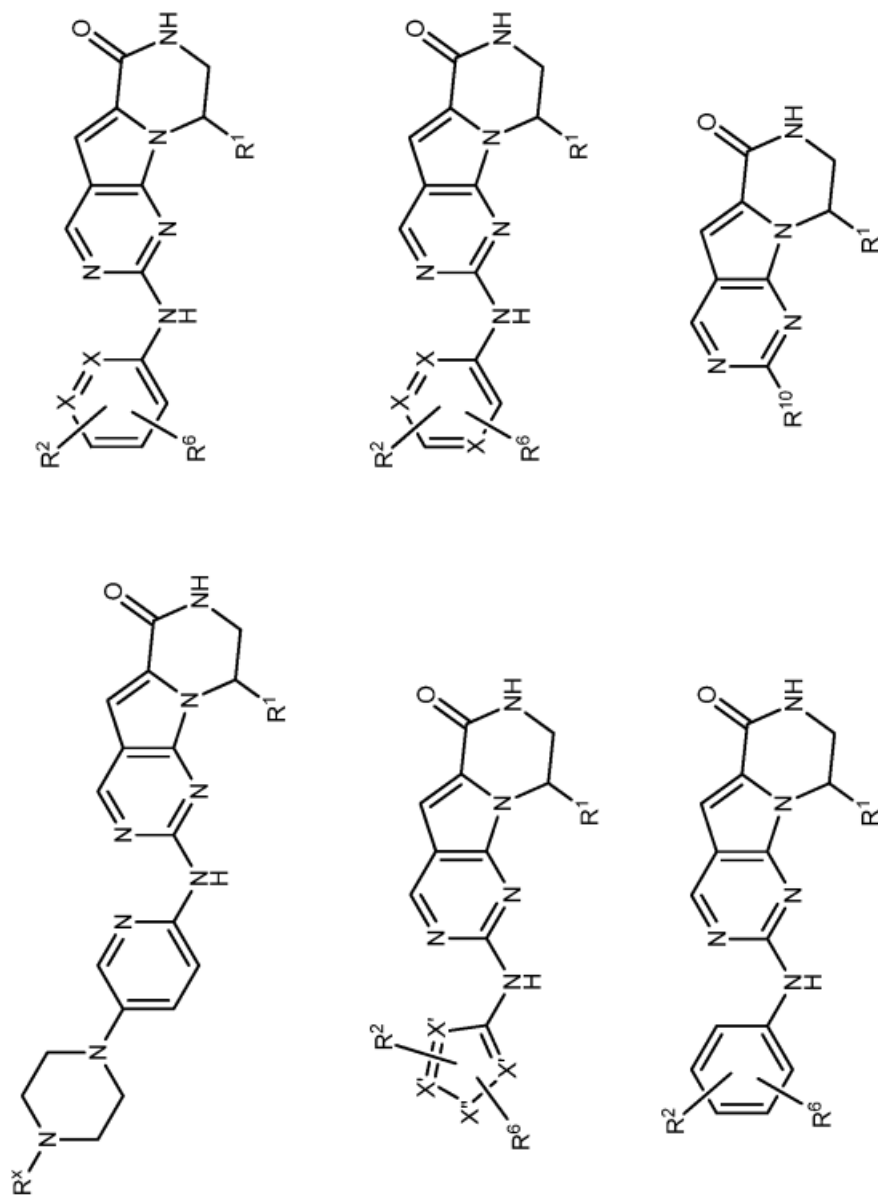


FIG. 31A

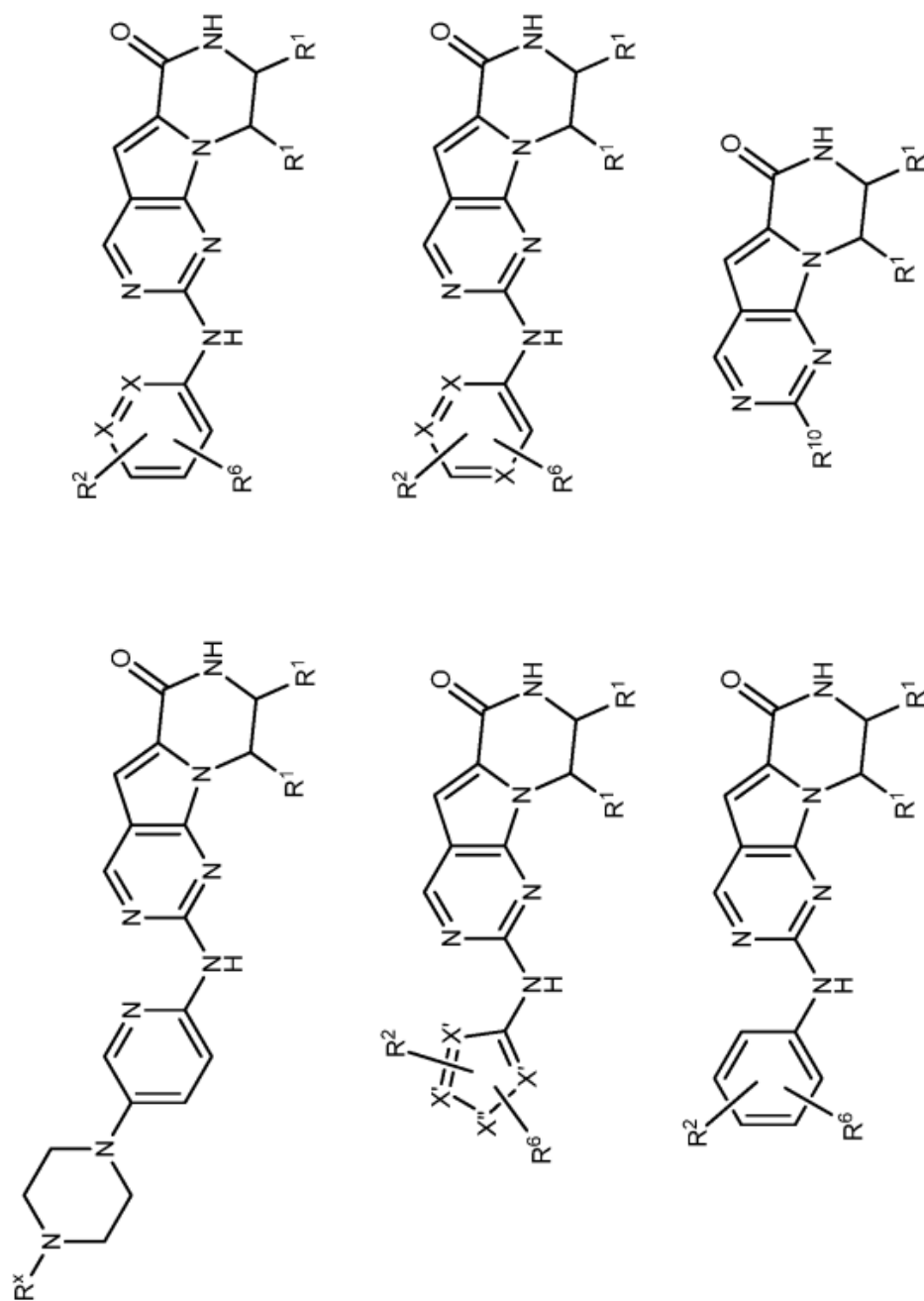


FIG. 31B

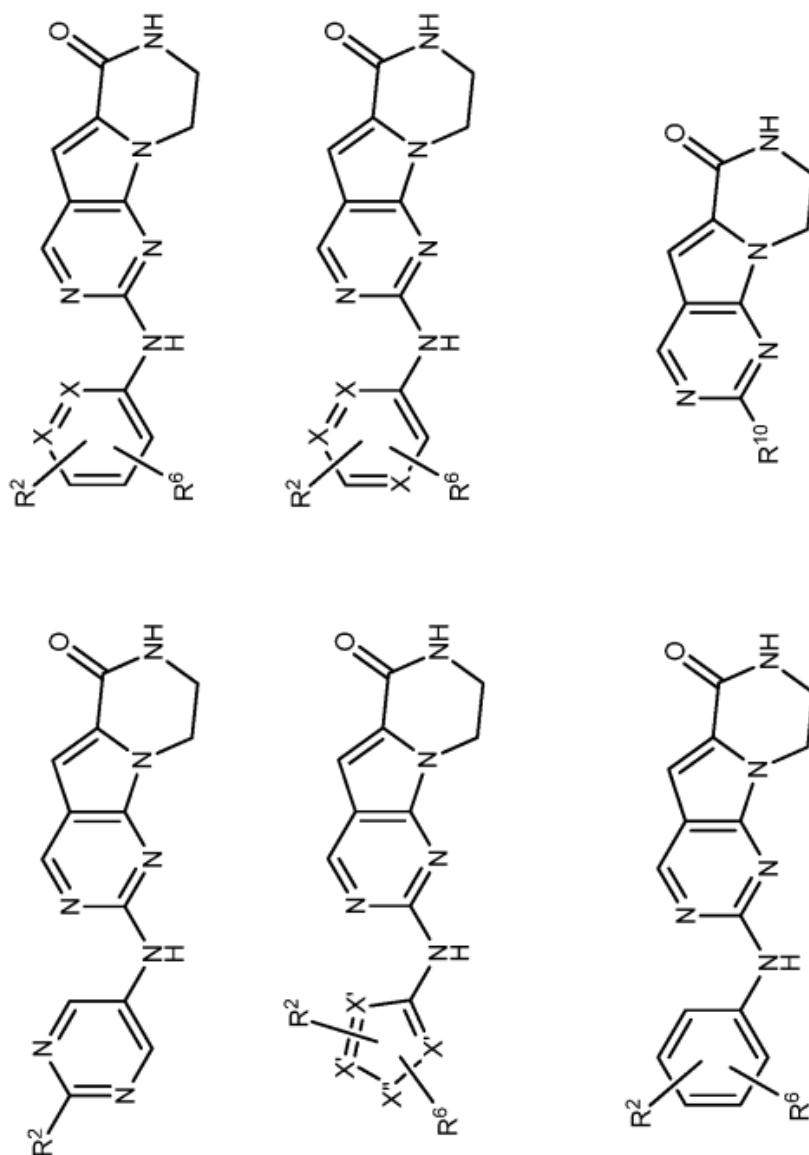


FIG. 31C

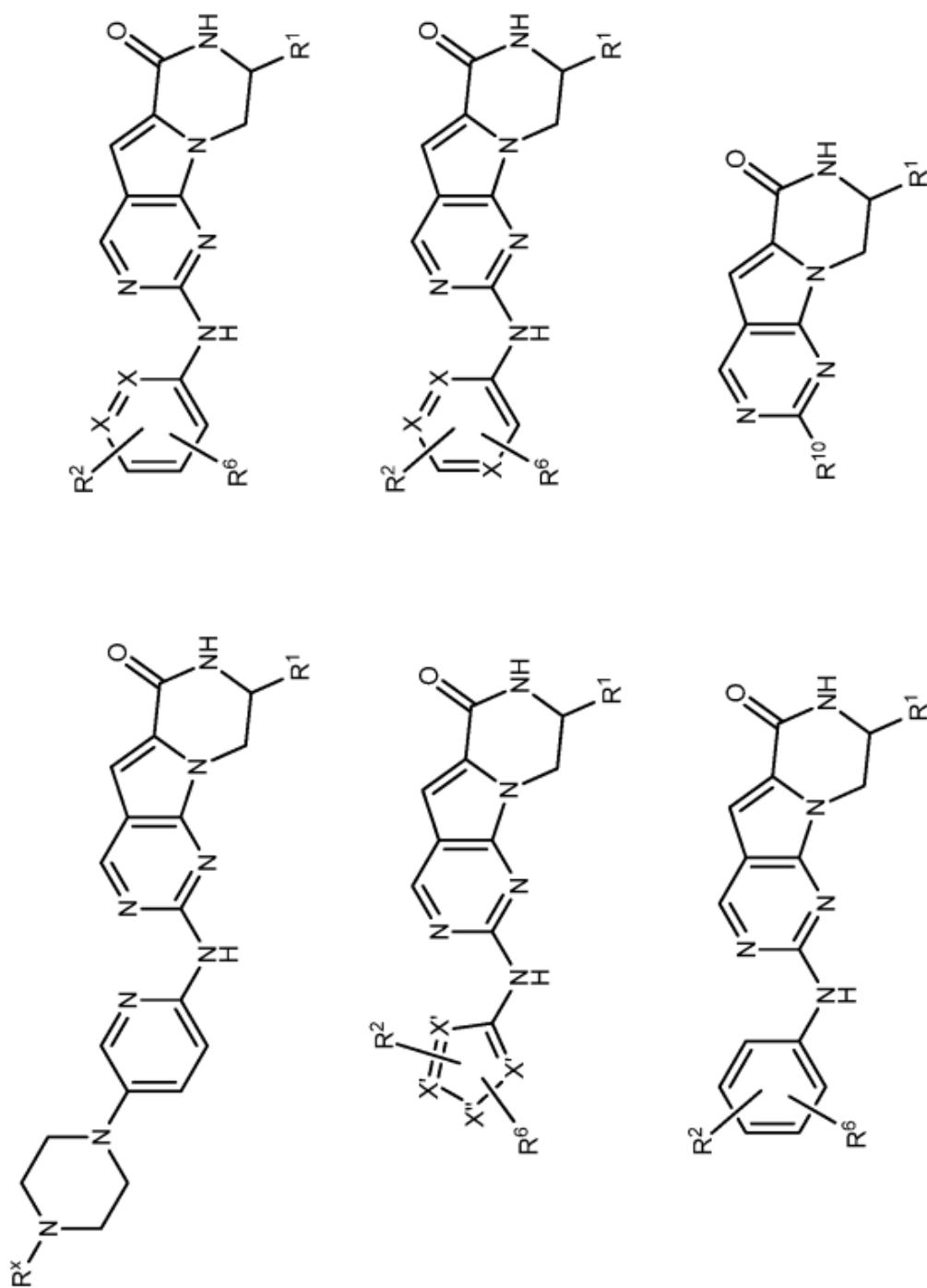


FIG. 31D

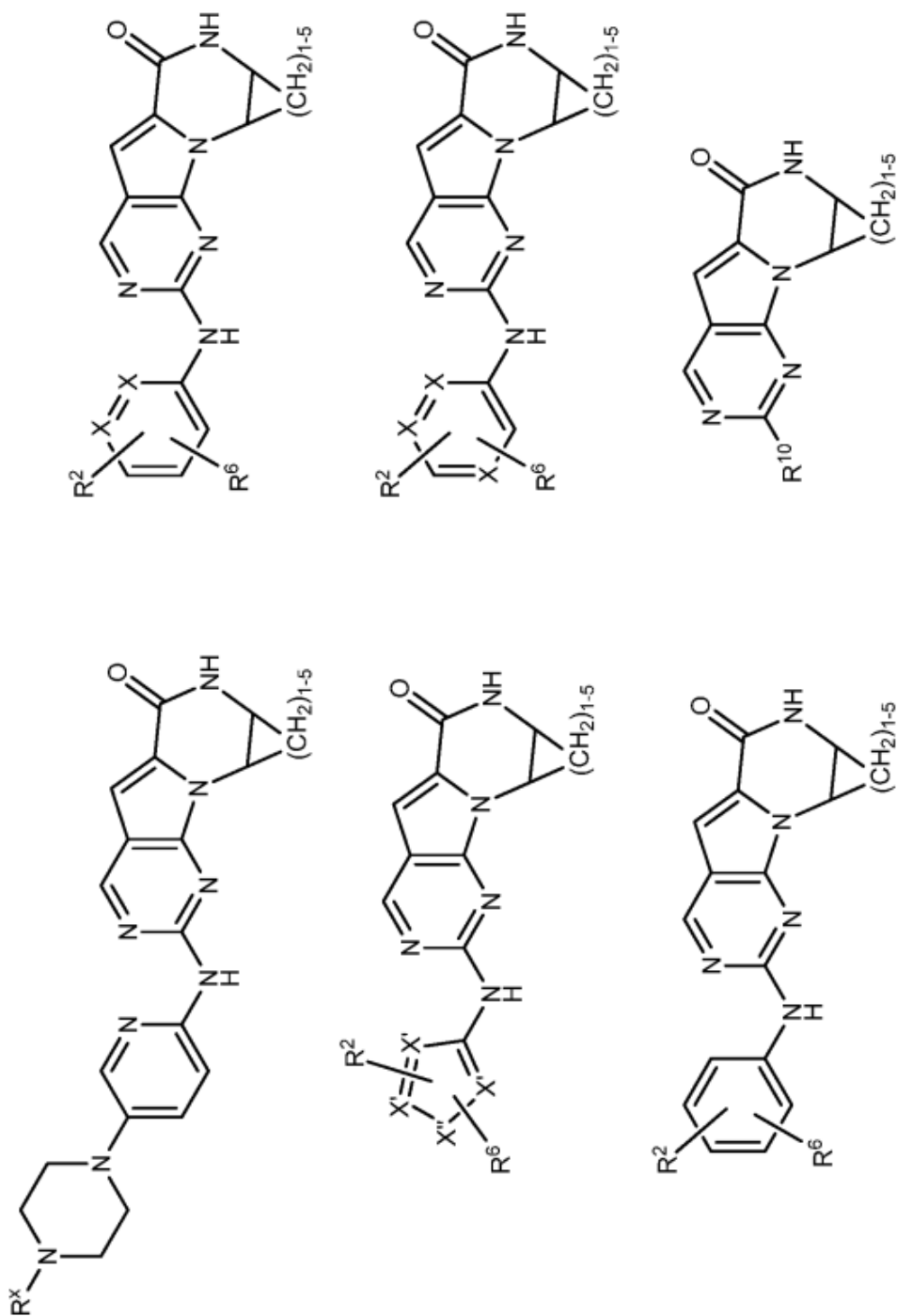


FIG. 31E

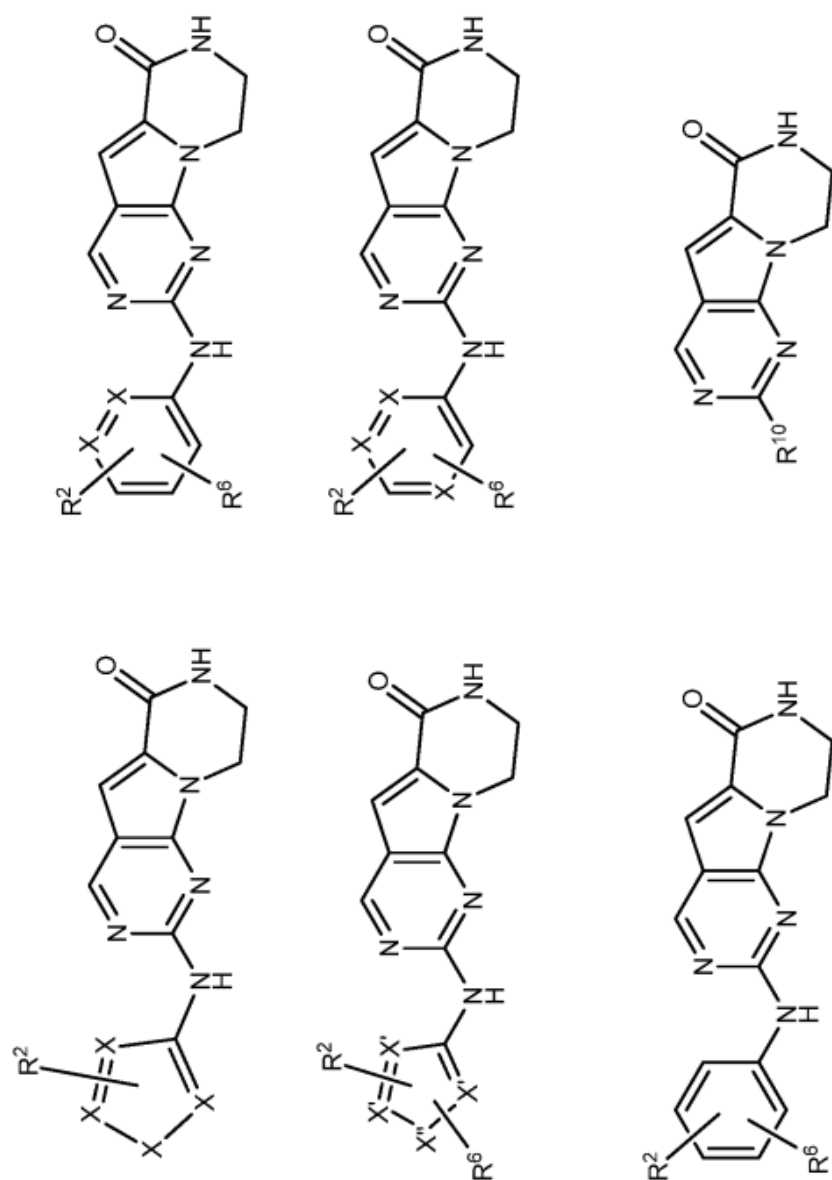


FIG. 31F