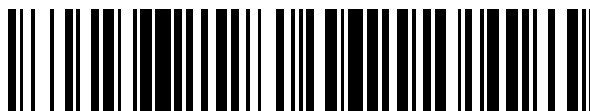


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 436**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2014 PCT/US2014/019372**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14134426**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2014 E 14710739 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 2961410**

54 Título: **Utilización de derivados de pirazolopirimidinas en el tratamiento de trastornos vinculados a PI3K**

30 Prioridad:

01.03.2013 US 201361771480 P

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

21.07.2020

73 Titular/es:

**INCYTE HOLDINGS CORPORATION (100.0%)
1801 Augustine Cut-Off
Wilmington, DE 19803, US**

72 Inventor/es:

**LI, YUN-LONG;
YAO, WENQING;
COMBS, ANDREW P.;
YUE, EDDY W.;
MEI, SONG;
ZHU, WENYU;
GLENN, JOSEPH;
MADUSKUIE, JR., THOMAS P.;
SPARKS, RICHARD B.;
DOUTY, BRENT y
HE, CHUNHONG**

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 2 774 436 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

Utilización de derivados de pirazolopirimidinas en el tratamiento de trastornos vinculados a PI3K

5 **CAMPO TÉCNICO**

[0001] La presente solicitud proporciona compuestos para uso en métodos de tratamiento de trastornos relacionados con PI3Kδ .

10 **ANTECEDENTES**

[0002] Las fosfoinositida 3-quinasas (PI3K) pertenecen a una gran familia de quinazas de señalización de lípidos que fosforilan fosfoinositidas en la posición D3 del anillo de inositol (Cantley, Science, 2002, 296 (5573): 1655-7). Las PI3K se dividen en tres clases (clase I, II y III) según su estructura, regulación y especificidad de sustrato. PI3K de clase I, que incluyen PI3Kα, PI3Kβ, PI3Kγ y PI3Kδ , son una familia de lípidos y proteínas quinazas de doble especificidad que catalizan la fosforilación de fosfatidilinosito-4,5-bisfosfato (PIP₂) dando lugar a fosfatidilinosito-3,4,5-trifosfato (PIP₃). PIP₃ funciona como un segundo mensajero que controla una serie de procesos celulares, incluidos el crecimiento, la supervivencia, la adhesión y la migración. Las cuatro isoformas de PI3K de clase I existen como heterodímeros compuestos de una subunidad catalítica (p110) y una subunidad reguladora estrechamente asociada que controla su expresión, activación y localización subcelular. PI3Kα, PI3Kβ y PI3Kδ se asocian con una subunidad reguladora conocida como p85 y se activan por factores de crecimiento y citocinas a través de un mecanismo dependiente de la tirosina quinasa (Jimenez, et al., J Biol Chem., 2002, 277 (44): 41556-62) mientras que PI3K se asocia con dos subunidades reguladoras (p101 y p84) y su activación es impulsada por la activación de receptores acoplados a proteína G (Brock, et al., J Cell Biol., 2003, 160 (1): 89-99). PI3Kα y PI3Kβ se expresan de forma ubicua. En contraste, PI3Kγ y PI3Kδ se expresan predominantemente en leucocitos (Vanhaesebroeck, et al., Trends Biochem Sci., 2005, 30 (4): 194-204).

[0003] La distribución tisular diferencial de las isoformas de PI3K incluye sus distintas funciones biológicas. La ablación genética de PI3Kα o PI3Kβ produce letalidad embrionaria, lo que indica que PI3Kα y PI3Kβ tienen funciones esenciales y no redundantes, al menos durante el desarrollo (Vanhaesebroeck, et al., 2005). En contraste, los ratones que carecen de PI3Kγ y PI3Kδ son viables, fértiles y tienen una vida normal aunque muestran un sistema inmunitario alterado. La deficiencia de PI3Kγ conduce a un reclutamiento deficiente de macrófagos y neutrófilos en sitios de inflamación, así como a una activación de células T deteriorada (Sasaki, et al., Science, 2000, 287 (5455): 1040-6). Los ratones mutantes PI3Kδ tienen defectos específicos en la señalización de células B que conducen a un desarrollo de células B deterioradas y respuestas de anticuerpos reducidas después de la estimulación con antígeno (Clayton, et al., J Exp Med. 2002, 196 (6): 753-63; Jou et al., Mol Cell Biol. 2002, 22 (24): 8580-91; Okkenhaug, et al., Science, 2002, 297 (5583): 1031-4).

[0004] Los fenotipos de los ratones mutantes de PI3Kγ y PI3Kδ sugieren que estas enzimas pueden jugar un papel en la inflamación y otras enfermedades de base inmunitaria y esto se confirma en modelos preclínicos. Los ratones mutantes de PI3Kγ están protegidos en gran medida de la enfermedad en modelos de ratón de artritis reumatoide (AR) y asma (Camps, et al., Nat Med. 2005, 11 (9): 936-43; Thomas, et al., Eur J Immunol, 2005, 35 (4): 1283-91). Además, se demostró que el tratamiento de ratones de tipo silvestre con un inhibidor selectivo de PI3Kγ reduce la glomerulonefritis y prolonga la supervivencia en el modelo MRL-lpr de lupus de nefritis sistémico (LES) y suprime la inflamación y el daño articular en los modelos de AR (Barber, et al., Nat Med. 2005, 11 (9): 933-5; Camps, et al., 2005). del mismo modo, se ha demostrado que tanto los ratones mutantes PI3Kδ como los ratones de tipo silvestre tratados con un inhibidor selectivo de PI3Kδ han atenuado la inflamación alérgica de las vías respiratorias y la hiperreactividad en un modelo de asma en ratones (Ali, et al., Nature. 2004, 431 (7011): 1007-11; Lee, et al., FASEB J. 2006, 20 (3): 455-65) y haber atenuado la enfermedad en un modelo de AR (Randis, et al., Eur. J Immunol., 2008, 38 (5): 1215-24).

[0005] La proliferación de células B ha demostrado desempeñar un papel importante en el desarrollo de enfermedades inflamatorias autoinmunes (Puri, Frontiers in Immunology (2012), 3 (256), 1-16; Walsh, Kidney International (2007) 72, 676- 682). Por ejemplo, las células B son compatibles con la autorreactividad de las células T, un componente importante de las enfermedades inflamatorias autoinmunes. Una vez activadas y maduras, las células B pueden transitar a sitios de inflamación y reclutar células inflamatorias o diferenciarse a plasmablastos. Por lo tanto, la actividad de las células B puede verse afectada al atacar las citocinas estimuladoras de las células B, los receptores de la superficie de las células B o el agotamiento de las células B. El anticuerpo de ratón/humano quimérico monoclonal de Rituximab-an IgG1 κ dirigido contra el receptor de superficie de células B CD20- se ha demostrado para agotar células B CD20+. Se ha demostrado que el uso de rituximab tiene eficacia en el tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática, la anemia hemolítica autoinmune o la vasculitis. Por ejemplo, el tratamiento con rituximab resultó en la remisión de la enfermedad en pacientes que sufren vasculitis sistémica (ANAS) asociada a anticuerpos contra citoplasma de neutrófilos (AASV) con depleción de células B periférica demostrada (Walsh, 2007; Lovric, Nephrol Dial Transplant (2009) 24: 179-185). Del mismo modo, se informó una respuesta completa en un tercio a dos tercios de los pacientes con vasculitis mixta por crioglobulinemia después del tratamiento con rituximab, incluidos los pacientes que presentaron una forma grave de vasculitis que fue resistente o intolerante a otros tratamientos (Cacoub, Ann Rheum

Dis 2008; 67: 283-287). del mismo modo, se ha demostrado que rituximab tiene eficacia en el tratamiento de pacientes con púrpura trombocitopénica idiopática (o púrpura trombocitopénica inmune) (Garvey, British Journal of Hematology, (2008) 141, 149-169; Godeau, Blood (2008), 112 (4), 999-1004; Medeo, European Journal of Hematology, (2008) 81, 165-169) y anemia hemolítica autoinmune (Garvey, British Journal of Hematology, (2008) 141, 149-169).

5 **[0006]** La señalización de PI3K δ se ha relacionado con la supervivencia, migración y activación de células B (Puri, Frontiers in Immunology, 2012, 3 (256), 1-16, en las páginas 1-5; y Clayton, J Exp Med, 2002, 196 (6): 753-63). Por ejemplo, se requiere PI3K δ para la activación de células B dependiente de antígeno dirigida por el receptor de células B. Al bloquear la adhesión, supervivencia, activación y proliferación de las células B, la inhibición de PI3K δ puede afectar la capacidad de las células B para activar las células T, evitando su activación y reduciendo la secreción de autoanticuerpos y citocinas proinflamatorias. Por lo tanto, por su capacidad para inhibir la activación de las células B, se esperaría que los inhibidores de PI3K δ trataran las enfermedades mediadas por las células B que se pueden tratar mediante métodos similares, como el agotamiento de las células B por el rituximab. De hecho, se ha demostrado que los inhibidores de PI3K δ son modelos útiles en ratones de diversas enfermedades autoinmunes que también pueden tratarse con rituximab como la artritis (Puri (2012)). Además, las células B de tipo innato, que están unidas a la autoinmunidad, son sensibles a la actividad de PI3K δ , ya que las células MZ y B-1 están casi ausentes en los ratones que carecen del gen p110 δ (Puri (2012)). Los inhibidores de PI3K δ pueden reducir el tráfico y la activación de MZ y las células B-1, que están implicadas en enfermedades autoinmunes.

20 **[0007]** Además de su papel potencial en las enfermedades inflamatorias, las cuatro isoformas PI3K de clase I pueden desempeñar un papel en el cáncer. El gen que codifica p110 α está mutado con frecuencia en cánceres comunes, incluidos los de mama, próstata, colon y endometrio (Samuels, et al., Science, 2004, 304 (5670): 554; Samuels, et al., Curr Opin Oncol. 2006, 18 (1): 77- 82). El ochenta por ciento de estas mutaciones están representadas por una de las tres sustituciones de aminoácidos en los dominios helicoidales o quinasas de la enzima y conducen a una regulación positiva significativa de la actividad quinasa que resulta en la transformación oncogénica en el cultivo celular y en modelos animales (Kang, et al. al., Proc Natl Acad Sci EE.UU. 2005, 102 (3): 802-7; Bader, et al., Proc Natl Acad Sci EE.UU. 2006, 103 (5): 1475-9). No se han identificado tales mutaciones en las otras isoformas de PI3K, aunque existe evidencia de que pueden contribuir al desarrollo y progresión de tumores malignos. La sobreexpresión constante de PI3K δ se observa en la leucemia mieloblástica aguda (Sujobert, et al., Blood, 2005, 106 (3): 1063-6) y los inhibidores de PI3K δ pueden prevenir el crecimiento de células leucémicas (Billottet, et al., Oncogene, 2006, 25 (50): 6648-59). Se observa una expresión elevada de PI3K γ en la leucemia mieloide crónica (Hickey, et al., J Biol Chem. 2006, 281 (5): 2441-50). También se han observado alteraciones en la expresión de PI3K β , PI3K γ y PI3K δ en los cánceres de cerebro, colon y vejiga (Benistant, et al., Oncogene, 2000, 19 (44): 5083-90; Mizoguchi, et al., Brain Pathol. 2004, 14 (4): 372-7; Knobbe, et al., Neuropathol Appl Neurobiol. 2005, 31 (5): 486-90). Además, se ha demostrado que todas estas isoformas son oncogénicas en cultivo celular (Kang, et al., 2006).

[0008] Por estas razones, hay una necesidad de desarrollar nuevos inhibidores de PI3K que pueden utilizarse trastornos inflamatorios, enfermedades autoinmunes y cáncer. Esta invención está dirigida a esta necesidad y a otras.

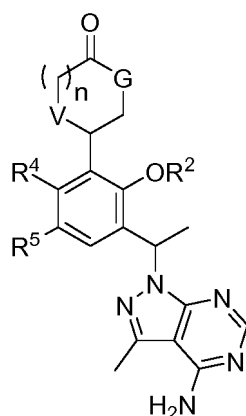
40 **[0009]** WO 2013/033569 A1 (publicado el 7 de marzo de 2013 y que es un documento según el Artículo 54 (3) EPC para el tema reivindicado) describe derivados de heterociclicilamina que modulan la actividad de las fosfoinositida 3-quininas (PI3K) y son útiles en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad de PI3K, incluidos, por ejemplo, trastornos inflamatorios, trastornos inmunes y cáncer.

45 SUMARIO

[0010] La presente invención proporciona compuestos para uso en métodos de tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Behçet, síndrome de Cogan, arteritis de células gigantes, polimialgia reumática (PMR), arteritis de Takayasu, enfermedad de Buerger (tromboangiitis obliterante), vasculitis del sistema nervioso central, enfermedad de Kawasaki, poliarteritis nodosa, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis mixta por crioglobulinemia (inducida por el virus de la hepatitis C o esencial), púrpura de Henoch-Schönlein (HSP), vasculitis por hipersensibilidad, poliangeítis microscópica, granulomatosis de Wegener, anti-vasculitis sistémica asociada a anticuerpos contra citoplasma de neutrófilos (ANCA), pénfigo, nefropatía membranosa, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia de células pilosas, linfoma de células del manto, linfoma linfocítico pequeño, linfoma folicular, linfoma linfoplasmático, linfoma de zona marginal extranodal, linfoma de células B grandes difuso (ABC) de tipo célula B activado o linfoma difuso de células B grandes (GCB) de células B del centro germinal en un paciente, en donde el compuesto es un compuesto de Fórmula IV:

60

65



IV

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde G, V, R², R⁴, R⁵ y n se definen en las reivindicaciones.

[0011] La presente invención proporciona además el uso de un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para uso en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

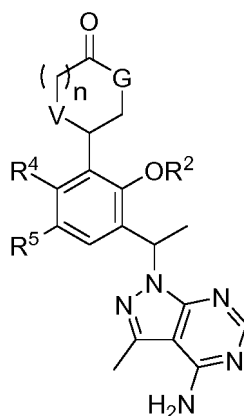
[0012]

FIG. 1 representa la estructura cristalina del compuesto del Ejemplo 269.

FIG. 2 representa el efecto inhibitor del tumor de dosis dos veces al día del Ejemplo 347 a 0,3, 1, 3 o 10 mg/kg durante 14 días en un modelo de xenoinjerto de tumor humano Pfeiffer de linfoma difuso de células B grandes (el eje y es el volumen del tumor (mm³ ± SEM); el eje x es días después de la implantación).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0013] La presente invención proporciona un compuesto para uso en un método de tratamiento de púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Behçet, síndrome de Cogan, arteritis de células gigantes, polimialgia reumática (PMR), arteritis de Takayasu, enfermedad de Buerger (tromboangiitis obliterante), vasculitis del sistema nervioso central, enfermedad de Kawasaki, poliarteritis nodosa, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis mixta por crioglobulinemia (inducida por el virus de la hepatitis C o esencial), púrpura de Henoch-Schönlein (HSP), vasculitis por hipersensibilidad, poliangeitis microscópica, granulomatosis de Wegener, vasculitis sistémica asociada a anticuerpos contra citoplasma antineutrófilos (ANCA), pénfigo, nefropatía membranosa, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia de células pilosas, linfoma de células del manto, linfoma linfocítico pequeño, linfoma folicular, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de zona marginal extranodal, linfoma de células B grandes difuso (ABC) de tipo célula B activado (ABC-DLBCL o linfoma difuso de células B grandes (GCB) de células B del centro germinal (GCB-DLBCL) en un paciente, en donde el compuesto es un compuesto de Fórmula IV:



IV

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

G es NH, n es 1 y V es O; o
 G es NH, n es 0 y V es CH₂; o
 G es O, n es 0 y V es NH;
 R² es C₁₋₆ alquilo o C₁₋₆ haloalquilo;
 R⁴ es halo, OH, CN, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, o C₁₋₄ haloalcoxi;
 R⁵ es halo, OH, CN, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, o C₁₋₄ haloalcoxi.

[0014] En algunas realizaciones, R² es C₁₋₃ alquilo o C₁₋₃ fluoroalquilo. En algunas realizaciones, R² es metilo, etilo, o 2,2-difluorometilo. En algunas realizaciones, R² es metilo. En algunas realizaciones, R² es etilo.

[0015] En algunas realizaciones, R⁴ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo. En algunas realizaciones, R⁴ es F, Cl, CN o metilo. En algunas realizaciones, R⁴ es F. En algunas realizaciones, R⁴ es Cl. En algunas realizaciones, R⁴ es CN. En algunas realizaciones, R⁴ es metilo.

[0016] En algunas realizaciones, R⁵ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo. En algunas realizaciones, R⁵ es Cl, CN, o metilo. En algunas realizaciones, R⁵ es Cl. En algunas realizaciones, R⁵ es CN. En algunas realizaciones, R⁵ es metilo.

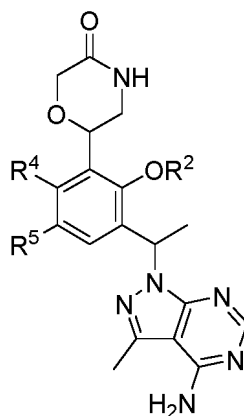
[0017] En algunas realizaciones:

R² es C₁₋₃ alquilo o C₁₋₃ fluoroalquilo;
 R⁴ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo; y
 R⁵ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo.

[0018] En algunas realizaciones:

R² es metilo, etilo, o 2,2-difluorometilo;
 R⁴ es F, Cl, CN, o metilo; y
 R⁵ es Cl, CN, o metilo.

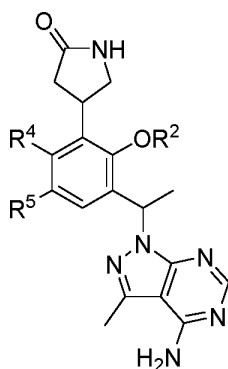
[0019] En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IVa:



IVa

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

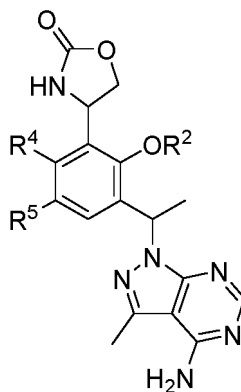
[0020] En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IVb:



IVb

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 **[0021]** En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IVc:



IVc

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 **[0022]** En algunas realizaciones, el método es un método de tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática (o púrpura trombocitopénica idiopática inmune) (ITP). En algunas realizaciones, el ITP es ITP recurrente. En algunas realizaciones, el ITP es ITP refractario.

45 **[0023]** En algunas realizaciones, el método es un método de tratamiento de anemia hemolítica autoinmune (AIHA).

50 **[0024]** En algunas realizaciones, el método es un método de tratamiento de vasculitis, en el que la vasculitis es la enfermedad de Behçet, síndrome de Cogan, arteritis de células gigantes, polimialgia reumática (PMR), arteritis de Takayasu, enfermedad de Buerger (tromboangiitis obliterante), sistema de vasculitis nervioso central, enfermedad de Kawasaki, poliarteritis nodosa, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis mixta por crioglobulinemia (inducida por el virus de la hepatitis C o esencial), púrpura de Henoch-Schönlein (HSP), vasculitis por hipersensibilidad, poliangeítis microscópica, granulomatosis de Wegener o vasculitis sistémica (AASV) asociada al anticuerpo de citoplasma de anti-neutrófilos (ANCA).

55 **[0025]** En algunas realizaciones, la presente solicitud proporciona compuestos como se define en las reivindicaciones, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para uso en un método de tratamiento de un linfoma agresivo (por ejemplo, centro germinal de tipo de células B (GCB) o activado de células de tipo B (ABC)) en un paciente.

60 **[0026]** Se aprecia que ciertas características de la invención, que, por claridad, se describen en el contexto de distintos modos de realización, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. A la inversa, varias características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una sola realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

65 **[0027]** En varios lugares de la presente memoria descriptiva, se describen sustituyentes de enlace divalente. Se pretende específicamente que cada sustituyente de enlace divalente incluya tanto las formas hacia adelante como hacia atrás del sustituyente de enlace. Por ejemplo, -NR(CR'R'')_n- incluye tanto -NR(CR'R'')_n- como -(CR'R'')_nNR-.

Cuando la estructura requiere claramente un grupo de enlace, se enumeran las variables de Markush para ese grupo se entiende que son grupos de enlace.

- 5 [0028] el término "n-miembros", donde n es un entero típicamente describe el número de átomos que forman el anillo en un resto donde el número de átomos formadores de anillo es n. Por ejemplo, piperidinilo es un ejemplo de un anillo heterocicloalquilo de 6 miembros, pirazolilo es un ejemplo de un anillo heteroarilo de 5 miembros, piridilo es un ejemplo de un anillo de heteroarilo de 6 miembros, y 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno es un ejemplo de un grupo cicloalquilo de 10 miembros.
- 10 [0029] Tal como se utiliza aquí, la frase "opcionalmente sustituido" significa no sustituido o sustituido. Como se usa en este documento, el término "sustituido" significa que un átomo de hidrógeno es eliminado y reemplazado por un sustituyente es de entenderse que la sustitución en un átomo dado está limitada por la valencia.
- 15 [0030] A lo largo de las definiciones, el término " C_{n-m} " indica un rango que incluye los puntos finales, en donde n y m son enteros e indican el número de carbonos. Los ejemplos incluyen C_{1-4} , C_{1-6} y similares.
- 20 [0031] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilo", usado sólo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado que puede ser de cadena lineal o ramificada, que tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, de 1 a 4 átomos de carbono, de 1 a 3 átomos de carbono o de 1 a 2 átomos de carbono. Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero sin limitación, grupos químicos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, *terc-butilo*, isobutilo, *sec-butilo*; homólogos superiores tales como 2-metilo-1-butilo, n-pentilo, 3-pentilo, n-hexilo, 1,2,2-trimetilpropilo y similares.
- 25 [0032] Como se usa en este documento, " C_{n-m} alqueno" se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono y que tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el resto alqueno contiene 2 a 6, 2 a 4, o 2 a 3 átomos de carbono. Los grupos alqueno de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, etenilo, n-propenilo, isopropenilo, n-butenilo, *sec-butenilo* y similares.
- 30 [0033] Como se usa en este documento, " C_{n-m} alquino" se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono y que tiene n a m átomos de carbono. Los grupos alquino de ejemplo incluyen, pero sin limitación, etinilo, propin-1-ilo, propin-2-ilo y similares. En algunas realizaciones, el resto alquino contiene 2 a 6, 2 a 4 o 2 a 3 átomos de carbono.
- 35 [0034] Tal como se utiliza aquí, el término "alqueno", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de enlace de alquilo divalente. Los ejemplos de grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a, etano-1,2-diilo, propano-1,3-diilo, propano-1,2-diilo, butano-1,4-diilo, butano-1,3-diilo, butano-1,2-diilo, 2-metilo-propano-1,3-diilo y similares.
- 40 [0035] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alcoxi", usado sólo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de fórmula -O-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. Los grupos alcoxi de ejemplo incluyen metoxi, etoxi, propoxi (por ejemplo, n-propoxi e isopropoxi), t-butoxi y similares. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- 45 [0036] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NH(alquilo), en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- 50 [0037] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alcoxycarbonilo" se refiere a un grupo de fórmula -C(O)O-alquilo, donde el alquilo grupo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- 55 [0038] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilcarbonilo" se refiere a un grupo de fórmula -C(O)-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- 60 [0039] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilcarbonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHC(O)-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- 65 [0040] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilsulfonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHS(O)₂-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.
- [0041] Como se usa en este documento, el término "aminosulfonilo" se refiere a un grupo de fórmula -S(O)₂NH₂.
- [0042] Como se usa en este documento, el término " C_{n-m} alquilaminosulfonilo" se refiere a un grupo de fórmula -

S(O)₂NH(alquilo), en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0043] Como se usa en este documento, el término "di(C_{n-m} alquilo)aminosulfonilo" se refiere a un grupo de fórmula -S(O)₂N(alquilo)₂, en el que cada grupo alquilo tiene independientemente n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, cada grupo alquilo tiene, independientemente, 1 a 6, 1 a 4, o 1 a 3 átomos de carbono.

[0044] Como se usa en este documento, el término "aminosulfonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHS(O)₂NH₂.

[0045] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} alquilaminosulfonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHS(O)₂NH(alquilo), en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0046] Como se usa en este documento, el término "di(C_{n-m} alquilo)aminosulfonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHS(O)₂N(alquilo)₂, en el que cada grupo alquilo tiene independientemente n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, cada grupo alquilo tiene, independientemente, 1 a 6, 1 a 4, o 1 a 3 átomos de carbono.

[0047] Como se usa en este documento, el término "aminocarbonilamino", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de fórmula -NHC(O)NH₂.

[0048] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} alquilaminocarbonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHC(O)NH(alquilo), en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0049] Como se usa en este documento, el término "di(C_{n-m} alquilo)aminocarbonilamino" se refiere a un grupo de fórmula -NHC(O)N(alquilo)₂, en el que cada grupo alquilo tiene independientemente n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, cada grupo alquilo tiene, independientemente, 1 a 6, 1 a 4, o 1 a 3 átomos de carbono.

[0050] Tal como se utiliza aquí, el término "C_{n-m} alquilcarbamilo" se refiere a un grupo de fórmula -C(O)-NH(alquilo), en el que el grupo alquilo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0051] Como se usa en este documento, el término "tio" se refiere a un grupo de fórmula -SH.

[0052] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} alquiltio" se refiere a un grupo de fórmula -S-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0053] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} alquilsulfino" se refiere a un grupo de fórmula -S(O)-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0054] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} alquilsulfonilo" se refiere a un grupo de fórmula -S(O)₂-alquilo, en el que el grupo alquilo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0055] Como se usa en este documento, el término "amino" se refiere a un grupo de fórmula -NH₂.

[0056] Como se usa en este documento, el término "carbamilo" a un grupo de fórmula -C(O)NH₂.

[0057] Tal como se utiliza aquí, el término "carbonilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo -C(O)-.

[0058] Como se usa en este documento, el término "ciano-C₁₋₃ alquilo" se refiere a un grupo de fórmula-(C₁₋₃ alquileo)-CN.

[0059] Como se usa en este documento, el término "HO-C₁₋₃ alquilo" se refiere a un grupo de fórmula-(C₁₋₃ alquileo)-OH.

[0060] Como se usa en este documento, el término "C₁₋₃ alcoxi-C₁₋₃ alquilo" se refiere a un grupo de fórmula-(C₁₋₃ alquileo)-O(C₁₋₃ alquilo).

[0061] Como se usa en este documento, el término "carboxi" se refiere a un grupo de fórmula -C(O)OH.

[0062] Como se usa en este documento, el término "di(C_{n-m}-alquilo)amino" se refiere a un grupo de fórmula -N(alquilo)₂,

en el que cada uno de los dos grupos alquilo tiene, independientemente, n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, cada grupo alquilo tiene independientemente 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0063] Como se usa en este documento, el término "di(C_{n-m}-alquilo)carbamilo" se refiere a un grupo de fórmula -C(O)N(alquilo)₂, en el que los dos grupos alquilo cada uno tiene, independientemente, n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, cada grupo alquilo tiene independientemente 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0064] Como se usa en el presente documento, "halo" se refiere a F, Cl, Br, o I. En algunas realizaciones, el grupo halo es F o Cl.

[0065] Como se usa en este documento, "C_{n-m} haloalcoxi" se refiere a un grupo de fórmula -O-haloalquilo que tiene de n a m átomos de carbono. Un ejemplo de grupo haloalcoxi es OCF₃. En algunas realizaciones, el grupo haloalcoxi está fluorado solamente. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0066] Como se usa en este documento, el término "C_{n-m} haloalquilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo alquilo que tiene de un átomo de halógeno a 2s + 1 átomos de halógeno que pueden ser iguales o diferentes, donde "s" es el número de átomos de carbono en el grupo alquilo, en donde el grupo alquilo tiene n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo haloalquilo está fluorado solamente (por ejemplo, un grupo "fluoroalquilo"). En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono.

[0067] Como se usa en este documento, "cicloalquilo" se refiere a hidrocarburos cíclicos no aromáticos que incluyen grupos alquilo y/o alqueno ciclado. Los grupos cicloalquilo pueden tener 3, 4, 5, 6 o 7 carbonos formadores de anillo (C₃₋₇). Los átomos de carbono formadores de anillo de un grupo cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con oxo o sulfido. Los grupos cicloalquilo también incluyen cicloalquilidenos. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclohexadienilo, cicloheptatrienilo y similares. En algunas realizaciones, cicloalquilo es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo. También se incluyen en la definición de cicloalquilo restos que tienen uno o más anillos aromáticos fusionados (es decir, que tienen un enlace en común) con el anillo de cicloalquilo, por ejemplo, derivados de benzo o tienilo de ciclopentano, ciclohexano y similares.

[0068] Como se usa en este documento, "heteroarilo" se refiere a un heterociclo aromático monocíclico que tiene al menos un miembro de anillo heteroátomo seleccionado entre azufre, oxígeno y nitrógeno. En algunas realizaciones, el anillo heteroarilo tiene 1, 2, 3 o 4 miembros de anillo heteroátomo seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas realizaciones, cualquier N formador de anillo en un resto heteroarilo puede ser un N-óxido. En algunas realizaciones, el heteroarilo tiene 5-6 átomos en el anillo y 1 o 2 miembros del anillo heteroátomo seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas realizaciones, el heteroarilo es un anillo heteroarilo de cinco miembros o seis miembros.

[0069] El anillo heteroarilo A de cinco miembros que es un heteroarilo con un anillo que tiene cinco átomos en el anillo en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, o 3) átomos de anillo se seleccionan independientemente de N, O, y S. Los heteroarilos ejemplares de anillo de cinco miembros son tienilo, furilo, pirrolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, 1,2,3-triazolilo, tetrazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-triazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo y 1,3,4-oxadiazolilo.

[0070] Un anillo de heteroarilo de seis miembros es un heteroarilo con un anillo que tiene seis átomos de anillo en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, o 3) átomos de anillo se seleccionan independientemente de N, O, y S. Los heteroarilos ejemplares del anillo de seis miembros son piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo y piridazinilo.

[0071] Como se usa en este documento, "heterocicloalquilo" se refiere a heterociclos monocíclicos no aromáticos que tienen uno o más heteroátomos formadores de anillo seleccionados de O, N, o S. Incluidos en heterocicloalquilo son grupos de heterocicloalquilo monocíclico de 4, 5, 6, y 7 miembros. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen pirrolidina-2-ona, 1,3-isoxazolidina-2-ona, piranilo, tetrahidropurano, oxetanilo, azetidino, morfolino, tiomorfolino, piperazinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, piperidinilo, pirrolidinilo, isoxazolisotiazolidinilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, imidazolidinilo, azepanilo, 3-oxo-morfolin-6-ilo, 2-oxopirrolidina-4-ilo, 2-oxo-oxazolidina-4-ilo, 2-oxo-oxazolidina-5-ilo, y similares. Los átomos de carbono formadores de anillo y los heteroátomos de un grupo heterocicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con oxo o sulfido (por ejemplo, C(O), S(O), C(S) o S(O)₂, etc.). El grupo heterocicloalquilo puede estar unido a través de un átomo de carbono formador de anillo o un heteroátomo formador de anillo. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo contiene 0 a 3 dobles enlaces. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo contiene 0 a 2 dobles enlaces. En algunas realizaciones, el heterocicloalquilo tiene 4-7 o 4-6 átomos en el anillo con 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre y que tienen uno o más miembros del anillo oxidados.

[0072] En ciertos lugares, las definiciones o realizaciones se refieren a anillos específicos (por ejemplo, un anillo de acetidina, un anillo de piridina, etc.). A menos que se indique lo contrario, estos anillos se pueden unir a cualquier miembro del anillo siempre que no se exceda la valencia del átomo. Por ejemplo, un anillo de acetidina puede estar unido en cualquier posición del anillo, mientras que un anillo de acetidina-3-ilo está unido en la posición 3.

- 5 **[0073]** Los compuestos descritos en este documento pueden ser asimétricos (por ejemplo, que tienen uno o más estereocentros). Todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros y diastereómeros, están destinados a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Los métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente inactivos son conocidos en la técnica, tales como por resolución de mezclas racémicas o por síntesis estereoselectiva. Muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles C = N y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.
- 10 En algunas realizaciones, el compuesto tiene la configuración (*R*). En algunas realizaciones, el compuesto tiene la configuración (*S*).
- 15 **[0074]** La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método de ejemplo incluye la recristalización fraccionada usando un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico formador de sal ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para los métodos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tales como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos tales como ácido β-camporsulfónico. Otros agentes de resolución adecuados para los métodos de cristalización fraccionada incluyen formas estereoisoméricamente puras de α-metilbencilamina (*p. ej.*, formas *S* y *R*, o formas diastereoméricamente puras), 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, N-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano, y similares.
- 20 **[0075]** La resolución de mezclas racémicas también se puede llevar a cabo mediante elución en una columna empaquetada con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). La composición solvente de elución adecuada puede ser determinada por un experto en la materia.
- 25 **[0076]** Los compuestos descritos en este documento también incluyen formas tautoméricas. Las formas tautoméricas resultan del intercambio de un enlace simple con un enlace doble adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Las formas tautoméricas incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isoméricos que tienen la misma fórmula empírica y carga total. Los tautómeros prototrópicos de ejemplo incluyen pares de cetona - enol, pares de amida - ácido imídico, pares de lactama - lactim, pares de enamina - imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1H- y 3H-imidazol, 1H-, 2H- y 35 4H- 1,2,4-triazol, 1H- y 2H-isoindol, y 1H- y 2H-pirazol. Las formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o bloqueadas estéricamente en una forma mediante la sustitución apropiada.
- 40 **[0077]** Los compuestos descritos en este documento también pueden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los compuestos intermedios o compuestos finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.
- 45 **[0078]** El término "compuesto", como se usa aquí se entiende que incluye todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros, y los isótopos de las estructuras representadas. Los compuestos aquí identificados por nombre o estructura como una forma tautomérica particular pretenden incluir otras formas tautoméricas a menos que se especifique lo contrario.
- 50 **[0079]** Todos los compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden encontrar junto con otras sustancias tales como agua y disolventes (por ejemplo, hidratos y solvatos) o se pueden aislar.
- 55 **[0080]** En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento, o sales de los mismos, se aíslan sustancialmente. Por "sustancialmente aislado" se entiende que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del entorno en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos descritos en este documento. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 97% o al menos aproximadamente el 99% en peso de los compuestos descritos en este documento, o sal de los mismos. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.
- 60 **[0081]** La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para referirse a aquellos compuestos, formas materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.
- 65 **[0082]** Las expresiones, "temperatura ambiente" y "temperatura de habitación" o "ta" como se usa aquí, se entiende en la técnica, y se refieren en general a una temperatura, por ejemplo, una temperatura de reacción, que es

aproximadamente la temperatura de la habitación en la que se lleva a cabo la reacción, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 30°C.

[0083] La presente invención incluye también sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en este documento. Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto original se modifica convirtiendo un resto ácido o base existente en su forma de sal. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, iso-propanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977).

20 *Métodos*

[0084] Los compuestos descritos en este documento pueden modular la actividad de una o más de diversas quinasas incluyendo, por ejemplo, fosfoinosítido 3-quinasa (PI3K). El término "modular" se refiere a la capacidad de aumentar o disminuir la actividad de uno o más miembros de la familia PI3K. Por consiguiente, los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en métodos de modulación de un PI3K poniendo en contacto el PI3K con uno o más de los compuestos o composiciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención pueden actuar como inhibidores de una o más PI3K. En realizaciones adicionales, los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse para modular la actividad de un PI3K en un individuo que necesita modulación del receptor administrando una cantidad moduladora de un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la modulación es inhibidora.

[0085] Dado que el crecimiento de células de cáncer y la supervivencia se ve afectada por múltiples vías de señalización, la presente invención es útil para el tratamiento de estados de enfermedad caracterizados por mutantes de quinasas resistentes a los fármacos. Además, se pueden usar en combinación diferentes inhibidores de quinasas, que exhiben diferentes preferencias en las quinasas que modulan las actividades. Este enfoque podría resultar altamente eficiente en el tratamiento de estados de enfermedad al dirigirse a múltiples vías de señalización, reducir la probabilidad de que surja resistencia a los medicamentos en una célula y reducir la toxicidad de los tratamientos para la enfermedad.

[0086] Las quinasas a las que se unen los presentes compuestos y/o modulan (por ejemplo, inhiben) incluyen cualquier miembro de la familia PI3K. En algunas realizaciones, el PI3K es PI3K α , PI3K β , PI3K γ o PI3K δ . En algunas realizaciones, el PI3K es PI3K γ o PI3K δ . En algunas realizaciones, el PI3K es PI3K γ . En algunas realizaciones, el PI3K es PI3K δ . En algunas realizaciones, el PI3K incluye una mutación. Una mutación puede ser un reemplazo de un aminoácido por otro, o una delección de uno o más aminoácidos. En tales realizaciones, la mutación puede estar presente en el dominio de quinasa de PI3K.

[0087] En algunas realizaciones, más de un compuesto descrito en este documento se usa para inhibir la actividad de una quinasa (por ejemplo, PI3K γ o PI3K δ).

[0088] En algunas realizaciones, más de un compuesto descrito en este documento se usa para inhibir más de una quinasa, tal como al menos dos quinasas (por ejemplo, PI3K γ y PI3K δ).

[0089] En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos se utiliza en combinación con otro inhibidor de quinasa para inhibir la actividad de una quinasa (por ejemplo, PI3K γ o PI3K δ).

[0090] En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos se utiliza en combinación con otro inhibidor de quinasa para inhibir las actividades de más de una quinasa (por ejemplo, PI3K γ o PI3K δ), tal como al menos dos quinasas.

[0091] Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser selectivos. Por "selectivo" se entiende que el compuesto se une o inhibe a una quinasa con mayor afinidad o potencia, respectivamente, en comparación con al menos otra quinasa. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento son inhibidores selectivos de PI3K γ o PI3K δ sobre PI3K α y/o PI3K β . En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento son inhibidores selectivos de PI3K δ (por ejemplo, sobre PI3K α , PI3K β y PI3K γ). En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento son inhibidores selectivos de PI3K γ (por ejemplo,

sobre PI3K α , PI3K β y PI3K δ). En algunas realizaciones, la selectividad puede ser al menos aproximadamente 2 veces, 5 veces, 10 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 100 veces, al menos aproximadamente 200 veces, al menos aproximadamente 500 veces o al menos aproximadamente 1000 veces. La selectividad puede medirse mediante métodos rutinarios en la técnica. En algunas realizaciones, la selectividad se puede probar a la concentración de K_m ATP de cada enzima. En algunas realizaciones, la selectividad de los compuestos descritos en la presente memoria puede determinarse mediante ensayos celulares asociados con una actividad particular de la quinasa PI3K.

[0092] Tal como se utiliza aquí, el término "poner en contacto" se refiere a la unión de restos indicados en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" un PI3K con un compuesto descrito en el presente documento incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene un PI3K, así como, para el documento ejemplo, introduciendo un compuesto descrito aquí en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene el PI3K.

[0093] Tal como se utiliza aquí, el término "individuo" o "paciente" se usa de forma intercambiable, se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado vacuno, ovejas, caballos, o primates, y lo más preferiblemente humanos.

[0094] Tal como se utiliza aquí, la frase "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal que está siendo buscada en un tejido, sistema, animal, individuo o humano por un investigador, veterinario, médico u otro clínico. En algunas realizaciones, la dosificación del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, administrada a un paciente o individuo es de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 2 g, aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 1 mg a 50 mg, o aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg.

[0095] Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a uno o más de (1) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero que aún no experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad; (2) inhibición de la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, deteniendo un mayor desarrollo de la patología y/o sintomatología); y (3) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología), como disminuir la gravedad de la enfermedad.

Terapias de combinación

[0096] Uno o agentes farmacéuticos adicionales tales como, por ejemplo, quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, JAK (por ejemplo, JAK1 o JAK2), c-MET, VEGFR, PDGFR, cKit, IGF-1R, RAF, FAK, Akt mTOR, PIM y AKT (p. ej., inhibidores de quinasas AKT1, AKT2 o AKT3) como, por ejemplo, los descritos en WO 2006/056399 u otros agentes tales como anticuerpos terapéuticos pueden usarse en combinación con los compuestos de la presente invención para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas a PI3K. El uno o más agentes farmacéuticos adicionales se pueden administrar a un paciente de forma simultánea o secuencial.

[0097] Los ejemplos de anticuerpos para uso en terapia combinada incluyen, pero sin limitación, Trastuzumab (por ejemplo, anti-HER2), Ranibizumab (por ejemplo, anti-VEGF-A), Bevacizumab (nombre comercial Avastin, por ejemplo, anti-VEGF), Panitumumab (por ejemplo, anti-EGFR), Cetuximab (por ejemplo, anti-EGFR), Rituxan (anti-CD20) y anticuerpos dirigidos a c-MET.

[0098] Uno o más de los siguientes agentes pueden usarse en combinación con los compuestos de la presente invención y se presentan como una lista no limitante: un agente citostático, cisplatino, doxorubicina, taxotere, taxol, etopósido, irinotecán, camptostar, topotecán, paclitaxel, docetaxel, epotilonas, tamoxifeno, 5-fluorouracilo, metotrexato, temozolomida, ciclofosfamida, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, Iressa, Tarceva, anticuerpos para EGFR, Gleevec™, intrón, ara-C, adriamicina, citoxano, gemcitabina, mostaza de uracilo, clormetina, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobromán, trietilenmelamina, trietileno fosforamina, busulfán, carmustina, Lomustina, Estreptozocina, Dacarbazina, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, oxaliplatino, leucovorina, ELOXATIN™, pentostatina, vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, tenipósido 17.alfa.-etinilestradiol, dietilstilbestrol, testosterona, prednisona, fluoximesterona, dromostanolona propionato, testolactona, megestrolacetato, metilprednisolona, metiltestosterona, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, medroxiprogesteroneacetato, leuprolida, flutamida, toremifeno, goserelina, cisplatino, carboplatino, hidroxiiurea, amsacrina, procarbazona, mitotano, mitoxantrona, levamisol, navelbeno, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, droloxafina, hexametilmelamina, avastin, herceptin, bexxar, velcade, zevalina, trisenox, xeloda, vinorelbina, porfímero, erbitux, liposomal, tiotepa,

altretamina, melfalan, trastuzumab, lerozol, fulvestrant, exemestano, fulvestrant, ifosfomida, rituximab, C225, campath, clofarabina, cladribina, aphidicolon, rituxan, sunitinib, dasatinib, tezacicabina, Sml1, fludarabina, pentostatino, triapina, didox, trimidox, amidox, 3-AP, MDL-101,731, bendamustina (Treanda), ofatumumab o GS-1101 (también conocido como CAL-101).

5 [0099] Los ejemplos de quimioterapéuticos incluyen inhibidores de proteosomas (*p. ej.*, Bortezomib), talidomida, revlimid y agentes que dañan el ADN, como melfalan, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

10 [0100] Los esteroides de ejemplo incluyen corticosteroides tales como dexametasona o prednisona.

[0101] Los inhibidores de ejemplo Bcr-Abl incluyen los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, de los géneros y especies descritos en la patente de EE.UU. 5,521,184, WO 04/005281 y N° de Ser. EE.UU. 60/578,491.

15 [0102] Los inhibidores de Flt-3 adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en los documentos WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120.

[0103] Los inhibidores de la RAF adecuados de ejemplo incluyen compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en el documento WO 00/09495 y WO 05/028444.

20 [0104] Los inhibidores de FAK adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402.

25 [0005] Los inhibidores de mTOR adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en el documento WO 2011/025889.

[0106] En algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con uno o más de otros inhibidores de quinasas que incluyen imatinib, particularmente para tratar pacientes resistentes a imatinib u otros inhibidores de quinasas.

[0107] En algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con un quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, tal como el mieloma múltiple, y pueden mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin exacerbación de sus efectos tóxicos. Los ejemplos de agentes farmacéuticos adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple, por ejemplo, pueden incluir, sin limitación, melfalan, melfalan más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen los inhibidores de la quinasa Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK. Los efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de combinar un inhibidor de PI3K de la presente invención con un agente adicional. Además, la resistencia de las células de mieloma múltiple a agentes como la dexametasona puede ser reversible tras el tratamiento con el inhibidor de PI3K de la presente invención. Los agentes pueden combinarse con el presente compuesto en una forma de dosificación única o continua, o los agentes pueden administrarse simultánea o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

45 [0108] En algunas realizaciones, un corticosteroide tal como dexametasona se administra a un paciente en combinación con los compuestos de la invención donde la dexametasona se administra de manera intermitente en lugar de continuamente.

50 [0109] En algunas realizaciones adicionales, se pueden administrar combinaciones de los compuestos de la invención con otros agentes terapéuticos a un paciente antes, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o trasplante de células madre.

Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación

55 [0110] Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y pueden administrarse por una variedad de rutas, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica (incluidas las membranas transdérmicas, epidérmicas, oftálmicas y mucosas, incluyendo el suministro intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluso por nebulizador; intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. La administración parenteral incluye intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal intramuscular o inyección o infusión; o administración intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una sola dosis en bolo, o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Los portadores farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo o aceitosas, espesantes y similares pueden ser

necesarios o deseables.

5 [0111] Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, el compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos (excipientes) farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, la composición es adecuada para administración tópica. Al hacer las composiciones de la invención, el ingrediente activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye con un excipiente o se encierra dentro de dicho vehículo en forma de, por ejemplo, una cápsula, bolsita, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de tabletas, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

15 [0112] Al preparar una formulación, el compuesto activo se puede moler para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler a un tamaño de partícula de menos de 200 mallas. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se puede ajustar mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente 40 mallas.

20 [0113] Los compuestos descritos en el presente documento pueden molerse usando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulaciones. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de los compuestos descritos en este documento pueden prepararse mediante procesos conocidos en la técnica, por ejemplo, véase la aplicación internacional N° WO 2002/000196.

30 [0114] Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato cálcico, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como metilo y propilhidroxibenzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención en el documento se pueden formular para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

35 [0115] Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 1000 mg (1 g), más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mg, del ingrediente activo. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

40 [0116] En algunas realizaciones, las composiciones de la invención contienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo. Un experto en la materia apreciará que esto incorpora composiciones que contienen aproximadamente 5 a aproximadamente 10, aproximadamente 10 a aproximadamente 15, aproximadamente 15 a aproximadamente 20, aproximadamente 20 a aproximadamente 25, aproximadamente 25 a aproximadamente 30, aproximadamente 30 a aproximadamente 35, aproximadamente 35 a aproximadamente 40, aproximadamente 40 a aproximadamente 45, o aproximadamente 45 a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo.

50 [0117] En algunas realizaciones, las composiciones de la invención contienen de aproximadamente 50 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo. Un experto en la materia apreciará que esto incorpora composiciones que contienen aproximadamente 50 a aproximadamente 100, aproximadamente 100 a aproximadamente 150, aproximadamente 150 a aproximadamente 200, aproximadamente 200 a aproximadamente 250, aproximadamente 250 a aproximadamente 300, aproximadamente 350 a aproximadamente 400, o aproximadamente 450 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo.

60 [0118] En algunas realizaciones, las composiciones de la invención contienen de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo. Un experto en la materia apreciará que esto incorpora composiciones que contienen aproximadamente 500 a aproximadamente 550, aproximadamente 550 a aproximadamente 600, aproximadamente 600 a aproximadamente 650, aproximadamente 650 a aproximadamente 700, aproximadamente 700 a aproximadamente 750, aproximadamente 750 a aproximadamente 800, aproximadamente 800 a aproximadamente 850, aproximadamente 850 a aproximadamente 900, aproximadamente 900 a aproximadamente 950, o aproximadamente 950 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo.

65 [0119] Dosificaciones similares se pueden usar de los compuestos descritos en el presente documento en los métodos y usos de la invención.

5 [0120] El compuesto activo puede ser efectivo en un amplio intervalo de dosificación y generalmente se administra en una cantidad farmacéuticamente efectiva. Sin embargo, se entenderá que la cantidad del compuesto administrado realmente será determinada generalmente por un médico, de acuerdo con las circunstancias relevantes, incluida la afección a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso y respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

10 [0121] Para preparar composiciones sólidas tales como tabletas, el ingrediente activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el ingrediente activo se dispersa típicamente de manera uniforme en toda la composición, de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente efectivas, tales como tabletas, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide luego en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo de la presente invención.

20 [0122] Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden recubrirse o componerse de otra manera para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, la tableta o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externa, esta última en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase su liberación. Se puede usar una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales materiales que incluyen varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

25 [0123] Las formas líquidas en las que los compuestos y composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes con sabor adecuado, suspensiones acuosas o oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de maní, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

30 [0124] Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe anteriormente. En algunas realizaciones, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones se pueden nebulizar mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede conectar a una máscara facial, carpa o máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las composiciones de solución, suspensión o polvo pueden administrarse por vía oral o nasal desde dispositivos que administran la formulación de manera apropiada.

40 [0125] Las formulaciones tópicas pueden contener uno o más portadores convencionales. En algunas realizaciones, los ungüentos pueden contener agua y uno o más vehículos hidrófobos seleccionados de, por ejemplo, parafina líquida, polioxietileno alquilo éter, propilenglicol, vaselina blanca y similares. Las composiciones portadoras de cremas pueden basarse en agua en combinación con glicerol y uno o más componentes, por ejemplo, monoestearato de glicerina, monoestearato de glicerina PEG y alcohol cetilsteárilico. Los geles pueden formularse usando alcohol isopropílico y agua, adecuadamente en combinación con otros componentes tales como, por ejemplo, glicerol, hidroxietilcelulosa y similares. En algunas realizaciones, las formulaciones tópicas contienen al menos aproximadamente 0,1, al menos aproximadamente 0,25, al menos aproximadamente 0,5, al menos aproximadamente 1, al menos aproximadamente 2, o al menos aproximadamente 5% en peso del compuesto descrito aquí. Las formulaciones tópicas se pueden empaquetar adecuadamente en tubos de, por ejemplo, 100 g que se asocian opcionalmente con instrucciones para el tratamiento de la indicación seleccionada, por ejemplo, psoriasis u otra afección de la piel.

50 [0126] La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que está siendo administrado, el propósito de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la manera de administración, y similares. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se pueden administrar a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis efectivas dependerán de la condición de la enfermedad que se está tratando, así como del juicio del médico tratante, dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente, y similares.

60 [0127] Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en la forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden filtrarse estérilmente. Las soluciones acuosas pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, la preparación liofilizada se combina con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos típicamente estará entre 3 y 11, más preferiblemente de 5 a 9 y lo más preferiblemente de 7 a 8. Se entenderá que el uso de ciertos excipientes, vehículos o estabilizadores anteriores dará

como resultado la formación de sales farmacéuticas.

[0128] La dosis terapéutica de un compuesto de la presente invención puede variar según, por ejemplo, el particular uso para el que se hace el tratamiento, la manera de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente, y el juicio del médico que prescribe. La proporción o concentración de un compuesto descrito en el presente documento en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de una serie de factores que incluyen dosis, características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la ruta de administración. Por ejemplo, los compuestos descritos en el presente documento pueden proporcionarse en una solución tampón fisiológica acuosa que contiene aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos rangos de dosis típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas realizaciones, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosis dependa de variables tales como el tipo y el grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado general de salud del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis efectivas se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelos animales.

[0129] Las composiciones de la invención pueden incluir además uno o más agentes farmacéuticos adicionales tales como un quimioterapéutico, esteroide, compuesto antiinflamatorio o inmunosupresor, cuyos ejemplos se enumeran aquí.

Kits

[0130] La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados a PI3K, tales como cáncer, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto descrito aquí. Dichos kits pueden incluir además, si se desea, uno o más de varios componentes de kit farmacéutico convencionales, tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica. Las instrucciones, ya sea como insertos o como etiquetas, que indican las cantidades de los componentes a administrar, las pautas para la administración y/o las pautas para mezclar los componentes, también se pueden incluir en el kit.

Síntesis

[0131] Cualquier compuesto que no se encuentre dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas se proporciona con fines de referencia.

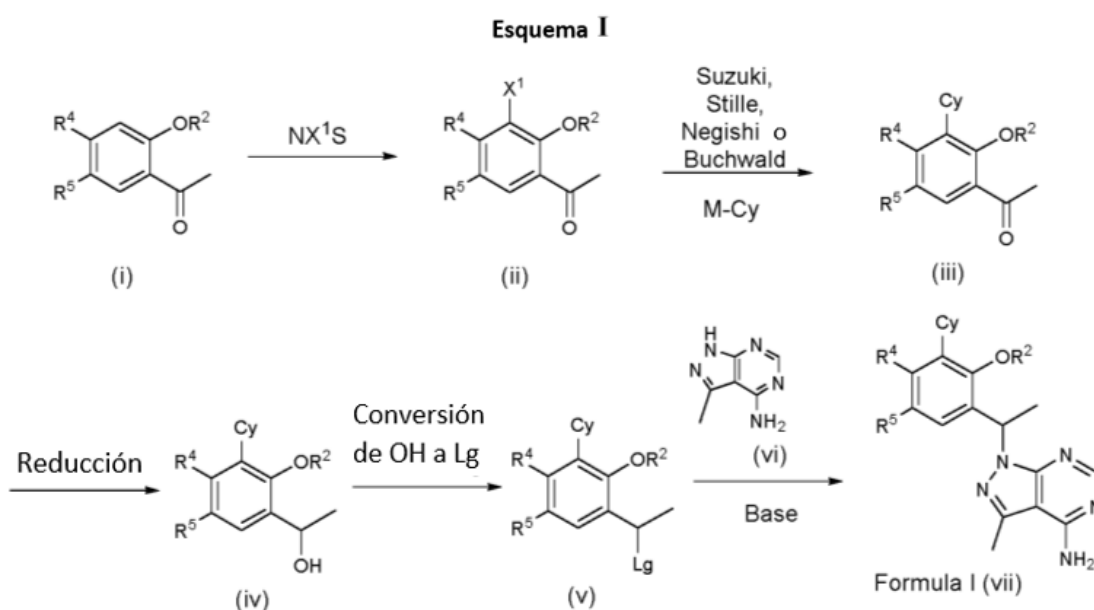
[0132] Los compuestos descritos en el presente documento, incluyendo sales de los mismos, se pueden preparar usando técnicas de síntesis orgánica conocidas y pueden ser sintetizadas de acuerdo con cualquiera de las numerosas rutas sintéticas posibles. En algunas realizaciones, los compuestos se pueden preparar como se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 13/601,349, presentada el 31 de agosto de 2012.

[0133] Las reacciones para la preparación de compuestos descritos en este documento pueden llevarse a cabo en disolventes adecuados que pueden ser fácilmente seleccionados por personas de habilidad en la técnica de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los intermedios o los productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, por ejemplo, temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del disolvente hasta la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción dada puede llevarse a cabo en un disolvente o una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo del paso de reacción particular, el experto en la materia puede seleccionar disolventes adecuados para un paso de reacción particular.

[0134] La preparación de los compuestos descritos en el presente documento puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. Un experto en la materia puede determinar fácilmente la necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados. La química de los grupos protectores se puede encontrar, por ejemplo, en TW Greene y P. GM Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Ed., Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1999).

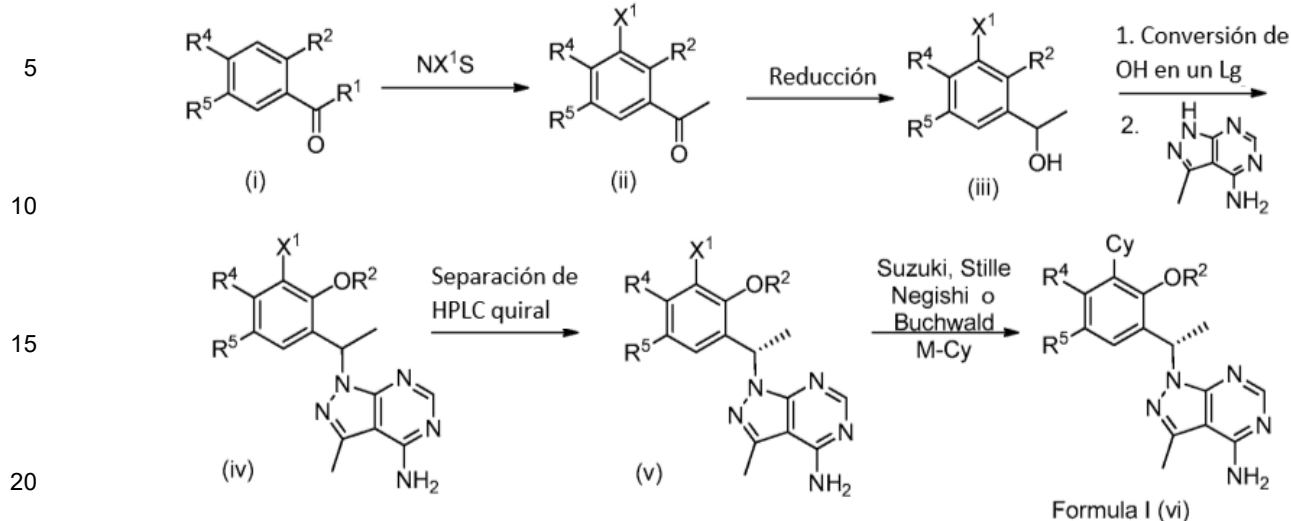
[0135] Las reacciones pueden ser controladas de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto puede controlarse por medios espectroscópicos, como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (p. ej., ^1H o ^{13}C), espectroscopía de infrarrojos, espectrofotometría (p. ej., UV-visible), espectrometría de masas o por métodos cromatográficos tales como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía líquida-espectroscopía de masas (LCMS) o cromatografía de capa delgada (TLC). Los expertos en la técnica pueden purificar los compuestos mediante una variedad de métodos, incluida la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ("Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization" Karl F. Blom, Brian Glass, Richard Sparks, Andrew P. Combs J. *Combi. Chem.* 2004, 6 (6), 874-883 y cromatografía de sílice en fase normal.

[0136] Por ejemplo, los compuestos de Fórmula I pueden formarse como se muestra en el Esquema I. El compuesto (i) puede ser halogenado con *N*-clorosuccinamida, *N*-bromosuccinamida o *N*-yodosuccinamida para dar el compuesto (ii) donde $X^1 = \text{Cl}, \text{Br}$ o I . El grupo halo de (ii) puede acoplarse a Cy-M, donde M es un ácido borónico, éster borónico o un metal apropiadamente sustituido (por ejemplo, Cy-M es $\text{Cy-B}(\text{OH})_2$, $\text{Cy-Sn}(\text{Bu})_4$ o Zn-Cy), en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (p. ej., una base de bicarbonato o carbonato) o una condición estándar de Negishi (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0), para dar un derivado de fórmula (iii). Alternativamente, Cy-M puede ser una amina cíclica (donde M es H y está unida al nitrógeno de la amina) con acoplamiento al compuesto (ii) mediante calentamiento en base o en condiciones de Buchwald (p. ej., en presencia de un paladio(0) catalizador, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de alcóxido)) para proporcionar cetona (iii). La reducción de la cetona (iii) con un reactivo adecuado, como el tetrahidroborato de sodio puede proporcionar el alcohol (iv) que puede convertirse en un derivado que tenga un grupo saliente (v), (p. ej., Lg es cloruro por reacción con cloruro cianúrico o mesilato por reacción con anhídrido metanosulfónico). Finalmente, el compuesto (v) puede hacerse reaccionar con 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina ((vi)) en condiciones básicas condiciones (por ejemplo, NaH o CsCO_3 o K_2CO_3) para dar un compuesto de Fórmula I (vii).



[0137] Alternativamente, los compuestos de Fórmula I también se pueden formar como se muestra en el Esquema II. El compuesto de cetona (i) se puede halogenar con *N*-clorosuccinamida, *N*-bromosuccinamida o *N*-yodosuccinamida para dar el compuesto (ii) donde $X^1 = \text{Cl}, \text{Br}$ o I . La cetona (ii) se puede reducir con un reactivo adecuado, como el tetrahidroborato de sodio, para dar un alcohol (iii) que se puede convertir en un derivado que tenga un grupo saliente (por ejemplo, Lg es cloruro por reacción con cloruro cianúrico o mesilato por reacción con anhídrido metanosulfónico) y luego reacciona con un heterociclo para dar un derivado heterocíclico (iv). Los enantiómeros del compuesto (iv) se pueden separar por cromatografía quiral para proporcionar un enantiómero único del compuesto heterocíclico (v). Finalmente, el grupo halo de (v) se puede acoplar a Cy-M, donde M es un ácido borónico, un éster borónico o un metal apropiadamente sustituido (por ejemplo, Cy-M es $\text{Cy-B}(\text{OH})_2$, $\text{Cy-Sn}(\text{Bu})_4$ o Zn-Cy), en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, un bicarbonato o base de carbonato) o condiciones estándar de Negishi (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0), para dar un derivado de Fórmula I (vi).

Esquema II



25

30

35

40

45

50

55

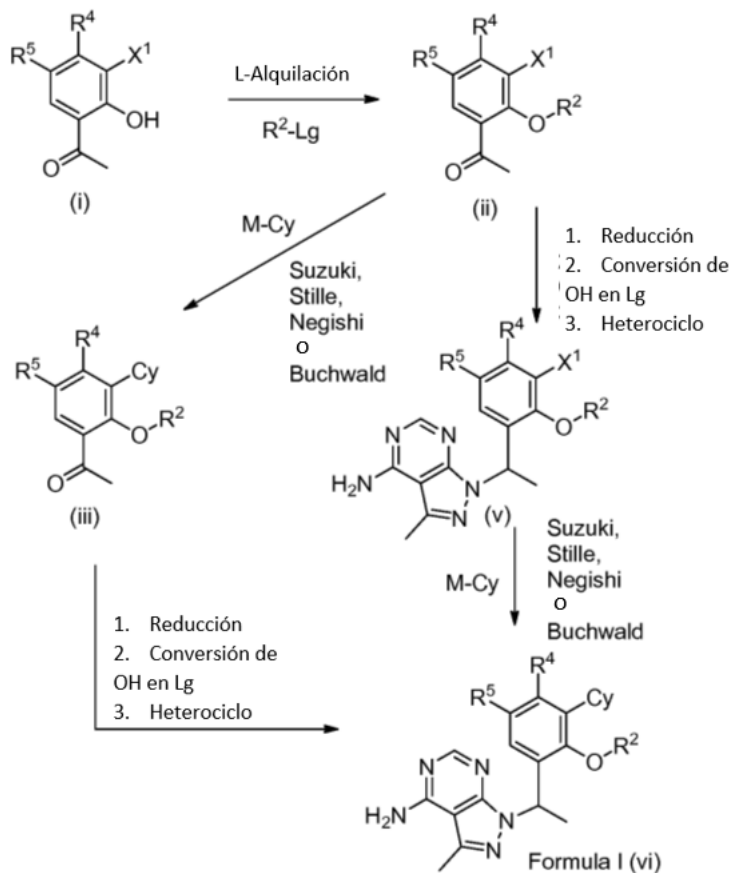
60

65

[0138] Los compuestos de Fórmula I también pueden formarse como se muestra en el Esquema III. El fenol (i) puede alquilarse usando condiciones de Mitsunobu (por ejemplo, R'OH, DEAD, Ph₃P) o condiciones de alquilación estándar (R'-Lg, Lg = grupo saliente) para proporcionar derivados de éter (ii), respectivamente. El grupo halo de (ii) se puede acoplar a Cy-M, donde M es un ácido borónico, borónico éster o un metal apropiadamente sustituido (p. ej., Cy-M es Cy-B(OH)₂, Cy-Sn(Bu)₄ o Zn-Cy), en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (p. ej., en presencia de un paladio(0) catalizador, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de bicarbonato o carbonato) o condiciones estándar de Negishi (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0), para dar un derivado de fórmula (iii). Alternativamente, Cy-M puede ser una amina cíclica (donde M es H y está unida al nitrógeno de la amina) con acoplamiento al compuesto (ii) mediante calentamiento en base o en condiciones de Buchwald (p. ej., en presencia de un paladio(0) catalizador, tal como tetraquis(trifenilfosfina)-paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de alcóxido)) para proporcionar compuestos de fórmula (iii). La cetona (iii) puede transformarse usando métodos similares a los mostrados en los Esquemas I y II para proporcionar compuestos de Fórmula I (iv). Alternativamente, la halo-cetona (ii) se puede transformar usando métodos similares a los mostrados en los Esquemas I y II para proporcionar halo intermedio (v). El acoplamiento de Suzuki, Stille, Negishi o Buchwald de Cy-M con halo halógeno intermedio (v) por métodos similares descritos en los Esquemas I y II también puede proporcionar compuestos de Fórmula I (vi).

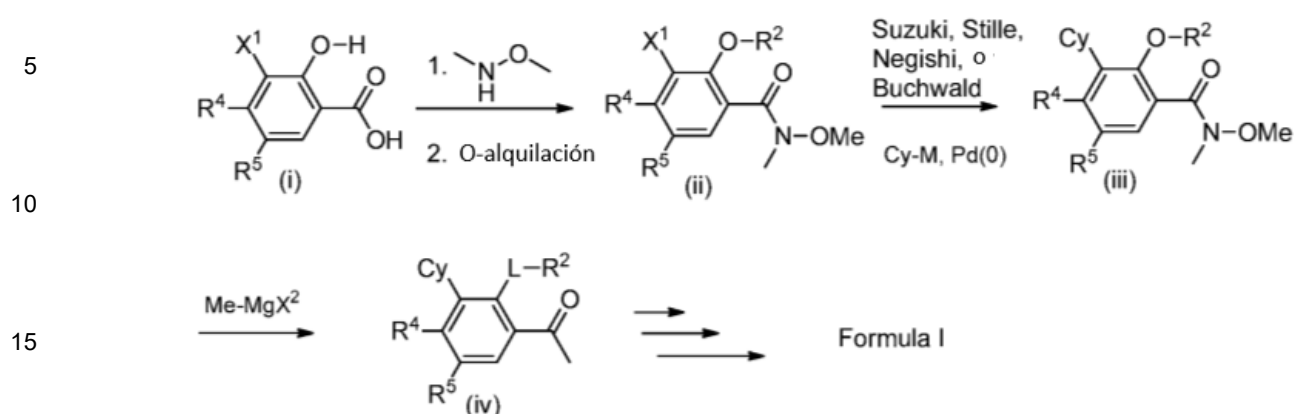
Esquema III

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



[0139] Las cetonas que pueden usarse en los procesos de los Esquemas I, II y III, pueden formarse como se muestra en el Esquema i.v. a continuación. El ácido carboxílico (i) se puede activar con un agente de acoplamiento (por ejemplo, HBTU o HATU) y luego reaccionar con *N,O*-dimetilhidroxilamina para dar una *N*-metoxi-*N*-metilcarboxamida. Los fenoles pueden alquilarse usando condiciones de Mitsunobu (por ejemplo, R^2 OH, DEAD, Ph_3P) o condiciones de alquilación estándar (R^2-Lg , Lg = grupo saliente) para proporcionar los derivados de éter (ii), respectivamente. El grupo halo de (ii) (X^1 es halo) se puede acoplar a $Cy-M$, donde M es un ácido borónico, un éster borónico o un metal apropiadamente sustituido (por ejemplo, $Cy-M$ es $Cy-B(OH)_2$, $Cy-Sn(Bu)_4$ o $Zn-Cy$), en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (p. ej., en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de bicarbonato o carbonato) o condiciones estándar de Negishi (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) para dar un derivado de fórmula (iii). Alternativamente, $Cy-M$ puede ser una amina cíclica (donde M es H y está unida al nitrógeno de la amina) con el acoplamiento al compuesto (ii) mediante calentamiento en base o en condiciones de Buchwald (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), tales como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de alcóxido)) para proporcionar amidas (iii). Reacción del compuesto (iii) con un reactivo de Grignard de fórmula $Me-MgX_2$ (X_2 = halo) puede dar cetona (iv). La cetona (iv) puede transformarse usando métodos similares a los mostrados en los Esquemas I, II y III para proporcionar compuestos de Fórmula I.

Esquema IV



20 **[0140]** Las cetonas que pueden usarse en los procesos del Esquema I, II y III también pueden formarse como se muestra en el Esquema V a continuación. El grupo halo (p. ej., $X^1 = I$) de (i) se puede acoplar a un reactivo de zinc $Cy-Zn$ (p. ej., como 3-yodoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo con polvo de Zn) en condiciones estándar de Knochel/Negishi (p. ej., en presencia de un catalizador de paladio(0), como tri-(2-furilo)fosfina y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) y 1,2-dibromoetano y clorotrimetilsilano) para dar un derivado de fórmula (ii). La acetidina (ii) puede desprotegerse (p. ej., $Pg = Boc$, usando TFA) y luego reaccionar bajo aminación alquilante, acilante o reductora (p. ej., R^3X como R^3-Br , R^3COCl , R^3-SO_2Cl , $R^3N=C=O$ o R^3CHO y un agente reductor) condiciones para proporcionar derivados de cetona (iii) que pueden convertirse en compuestos de Fórmula I (v) por métodos similares mostrados en los Esquemas I, II y III). Alternativamente, la cetona (ii) puede reducirse con reactivos adecuados ($NaBH_4$ o el catalizador CBS quiral de Corey para dar predominantemente un isómero del alcohol), el alcohol resultante puede convertirse en un grupo saliente (por ejemplo, Lg es cloruro por reacción con cloruro cianúrico o mesilato mediante reacción con anhídrido metanosulfónico) y luego el cloruro o mesilato reaccionó con un heterociclo apropiado (por ejemplo, similar a los métodos mostrados en los Esquemas I, II y III) para proporcionar derivados de fórmula (iv). El grupo protector de la amina se puede eliminar en condiciones estándar y luego reaccionar en condiciones de alquilación, acilación o aminación reductora (p. ej., R^3X como R^3-Br , R^3COCl , R^3-SO_2Cl , $R^3N=C=O$ o R^3CHO y un agente reductor) para dar compuestos de Fórmula I (v).

25

30

35

40

45

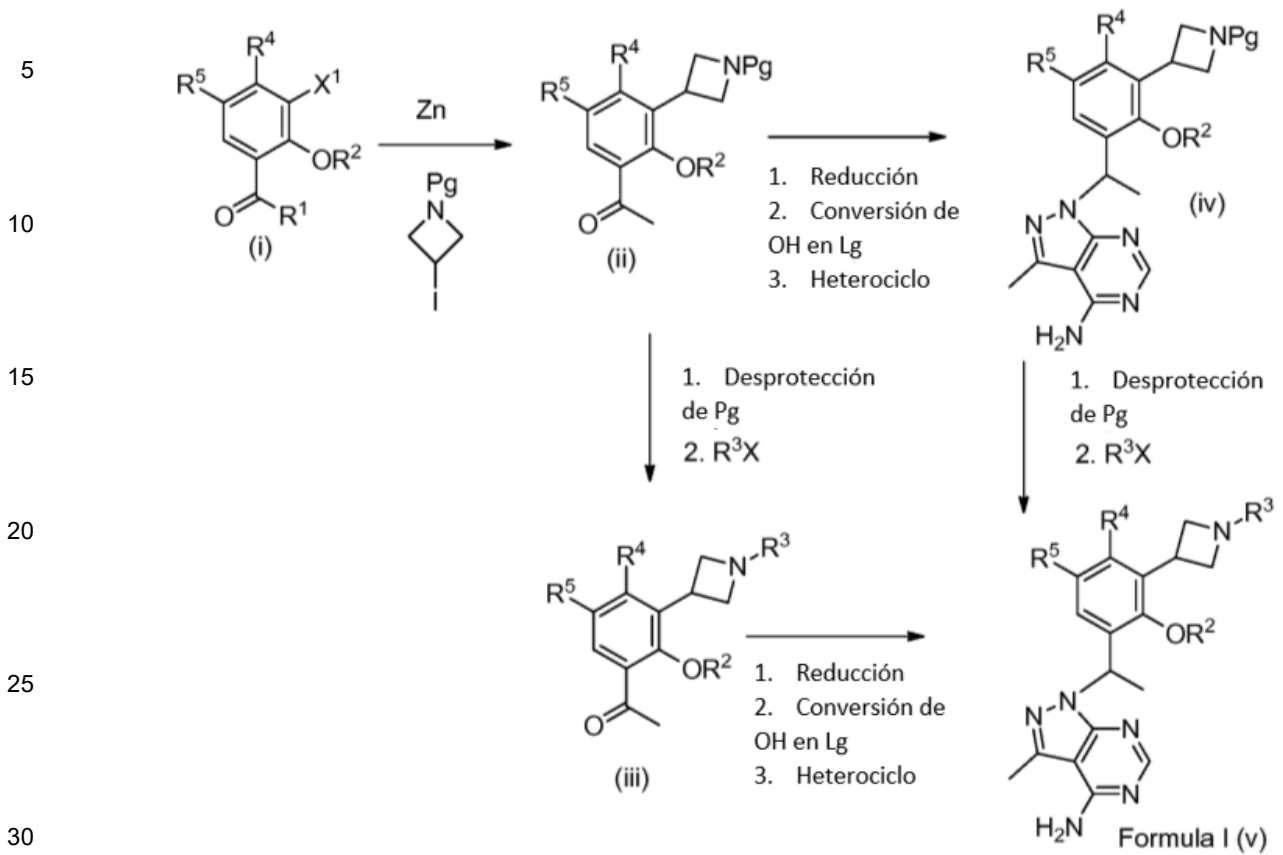
50

55

60

65

Esquema V



[0141] El compuesto de Fórmula I puede sintetizarse a partir de un compuesto de cloruro de ácido (i) como se ilustra en el Esquema VI. La condensación de un cloruro de ácido (i) con malononitrilo en presencia de una base, como el hidruro de sodio, puede dar un intermedio de dicianoenol, que puede ser O-metilado con un reactivo apropiado, como sulfato de dimetilo en presencia de una base apropiada, tal como bicarbonato de sodio, para producir un enol éter (ii). La reacción de enol éter (ii) con diclorhidrato de hidrazina en presencia de una base adecuada, tal como trietilamina, puede dar un compuesto de pirazol (iii). El compuesto de pirazol (iii) se puede hacer reaccionar con formamida para dar pirazolopirimidina (iv). Finalmente, el compuesto (iv) puede hacerse reaccionar con un compuesto apropiado que tenga un grupo saliente (v) en condiciones básicas para dar un compuesto de Fórmula I (vi).

40

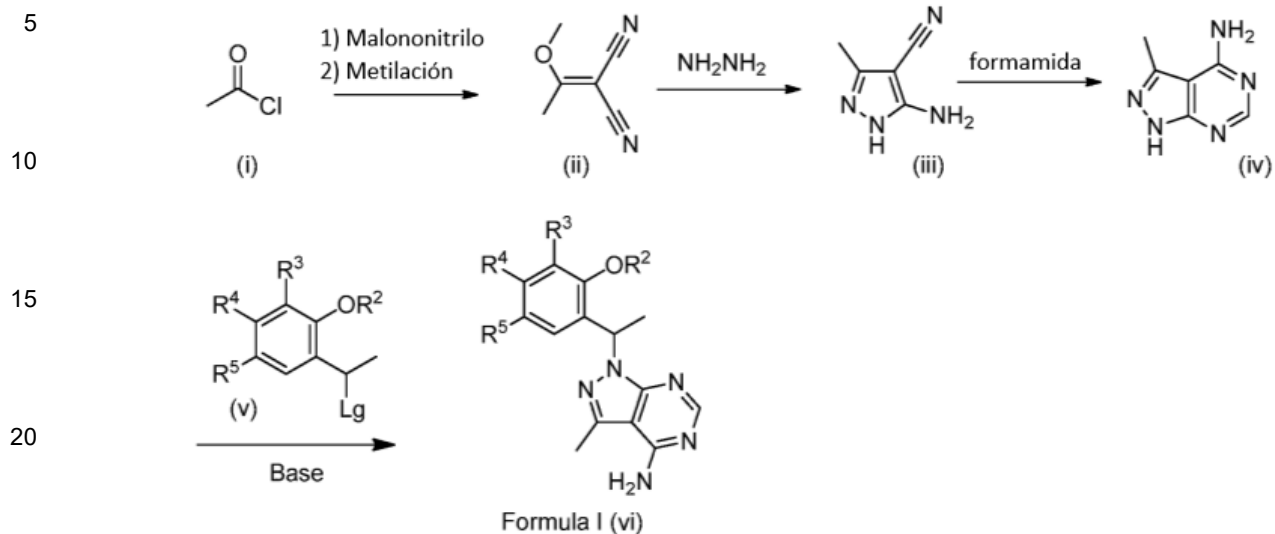
45

50

55

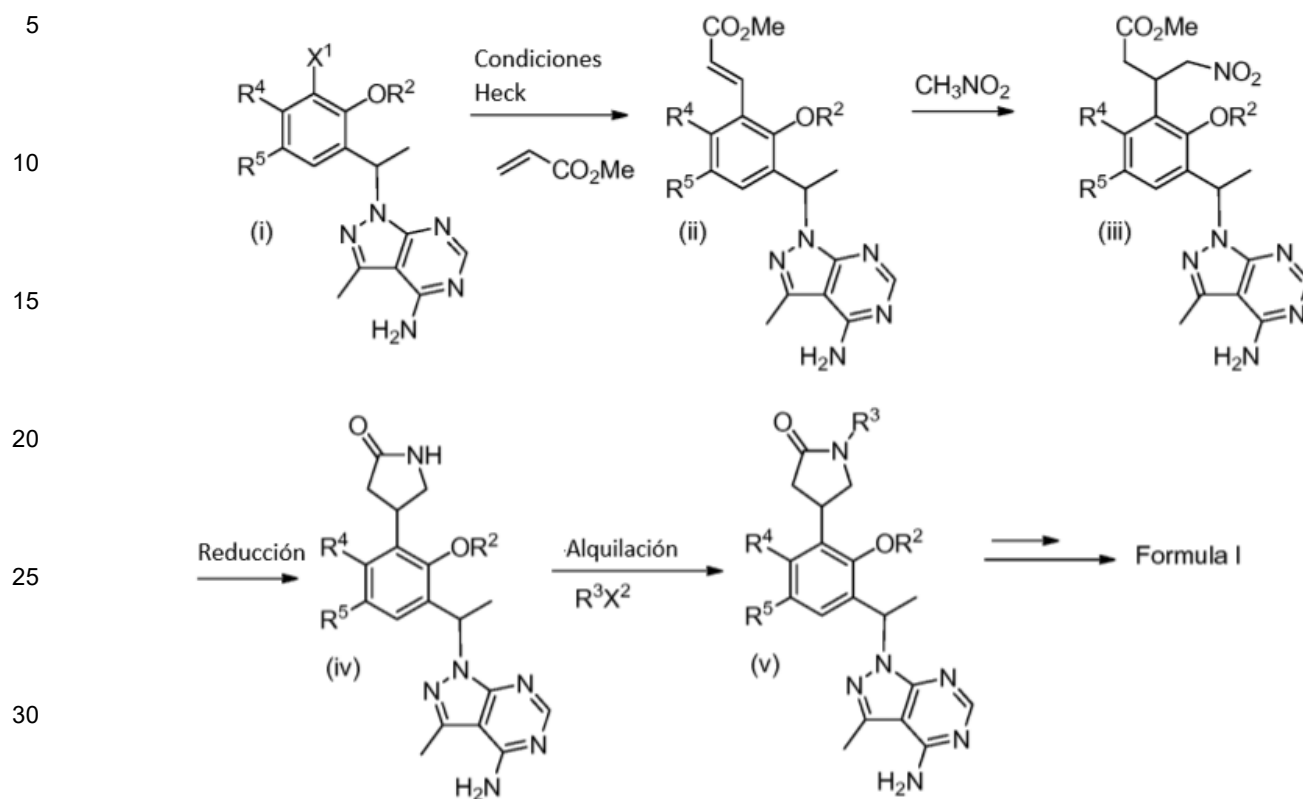
60

Esquema VI



[0142] Los compuestos de Fórmula I también se pueden formar como se muestra en el Esquema VII. El grupo halo, X^1 , de (i) se puede acoplar a un alqueno (p. ej., acrilato o acrilamida) en condiciones estándar de Heck (p. ej., en presencia de un catalizador de paladio (II), como el acetato de paladio) para dar un alqueno de fórmula (ii). La reacción de alqueno (ii) con nitrometano en presencia de DBU puede proporcionar el derivado nitro (iii) que se puede reducir en condiciones estándar (por ejemplo, $\text{NiCl}_2/\text{NaBH}_4$) para dar una amina libre que se cicla para formar lactama (iv). La lactama puede alquilarse en condiciones estándar (por ejemplo, $\text{R}^3\text{-X}^2$, donde $\text{X}^2 = \text{halo}$, en presencia de una base, como TEA o NaH) para dar una N-alquilo-lactama (v). Los compuestos de fórmula (v) y las pirrolidinas derivadas de la reducción de la lactama (v) con agentes reductores adecuados, tales como LiAlH_4 , pueden convertirse en compuestos de fórmula I usando las condiciones descritas en los esquemas I, II y III.

Esquema VII



35 **[0143]** Los compuestos de Fórmula I también se pueden formar como se muestra en el Esquema VIII. El grupo halo X^1 de (i) se puede acoplar a un ácido o éster alqueno borónico en condiciones estándar de Suzuki (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)) a dar un alqueno de fórmula (ii). La epoxidación de alqueno (ii) con *m*CPBA puede proporcionar el epóxido (iii) que se puede hacer reaccionar con una amina secundaria o primaria (amina = NH_2R^3) para dar compuestos amina de fórmula (iv). Los derivados de amina secundaria o terciaria (iv) pueden hacerse reaccionar adicionalmente con carbonildiamidazol o fosgeno para formar una oxazolidinona (v) o un haluro de acetilo (por ejemplo, cloruro de cloroacetilo en presencia de una base, como TEA) para dar el *N*-acilo derivado que se puede convertir en el derivado de morfolinona (vi) tras el tratamiento con una base (por ejemplo, NaH). Los compuestos de fórmula (iv, v, y vi) se pueden desproteger usando condiciones estándar (por ejemplo, los compuestos protegidos con grupos THP se pueden tratar con un ácido, como TFA o HCl) para dar compuestos de fórmula I.

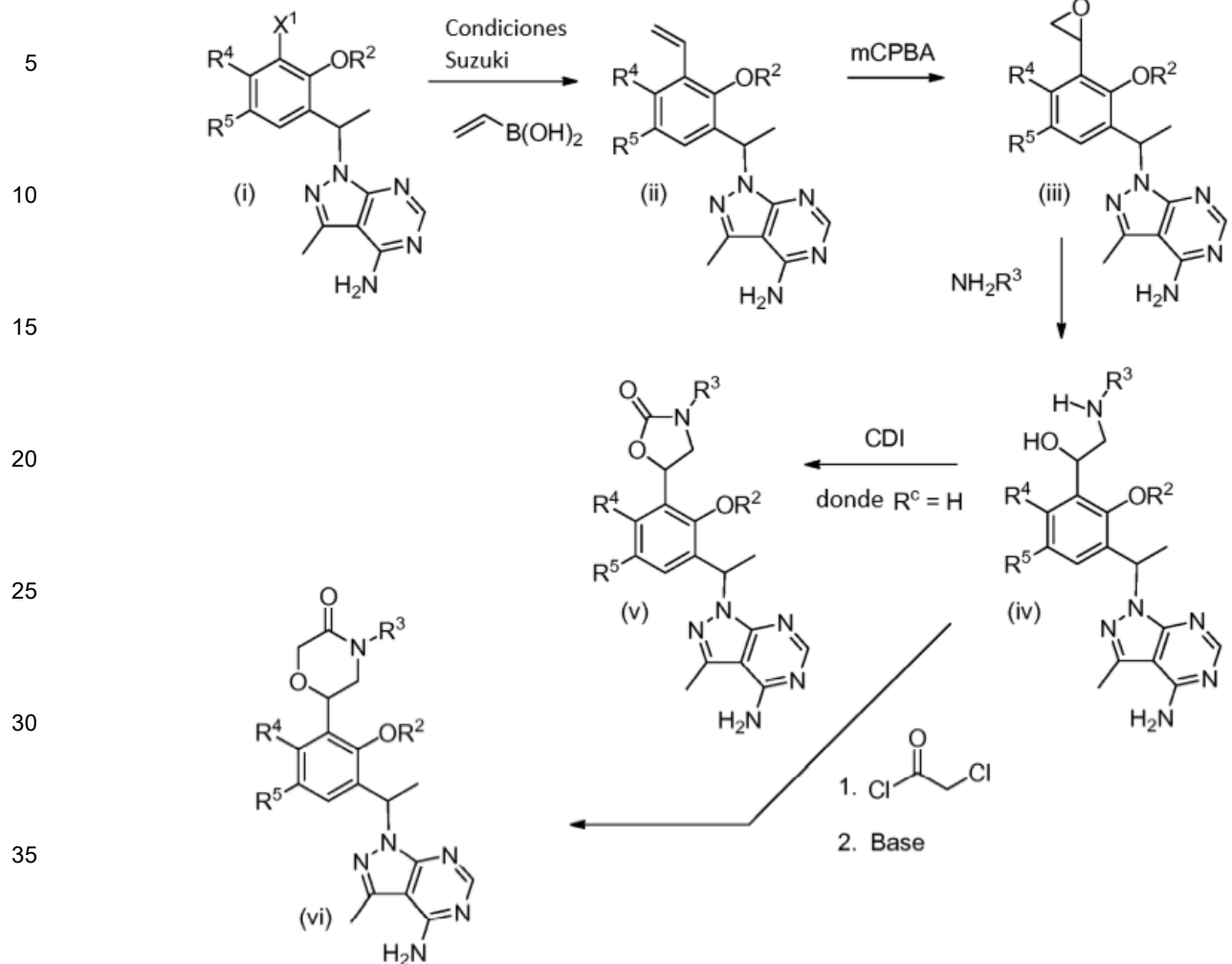
50

55

60

65

Esquema VIII



[0144] Los compuestos de Fórmula I también se pueden formar como se muestra en el Esquema IX. Aminohidroxilación Sharpless de un alqueno de fórmula (i) en condiciones adecuadas (A o B, como se describe en JACS, 2001, 123 (9), 1862-1871 y J. Org. Chem, 2011, 76, 358-372) puede dar el isómero aminohidroxi(ii) o (iii). Los compuestos (ii) y (iii) pueden hacerse reaccionar con carbonildiamidazol o fosgeno para formar una oxazolidinona (iv), o un haluro de acetilo (por ejemplo, cloruro de cloroacetilo en presencia de una base, como TEA) para dar un *N*-acilo derivado que se puede convertir en el derivado de morfolinona (v) tras el tratamiento con una base (p. ej., NaH). El isómero aminohidroxi alternativo (iii) puede convertirse en derivados de oxazolidinona y morfolinona como se muestra en el Esquema XV.

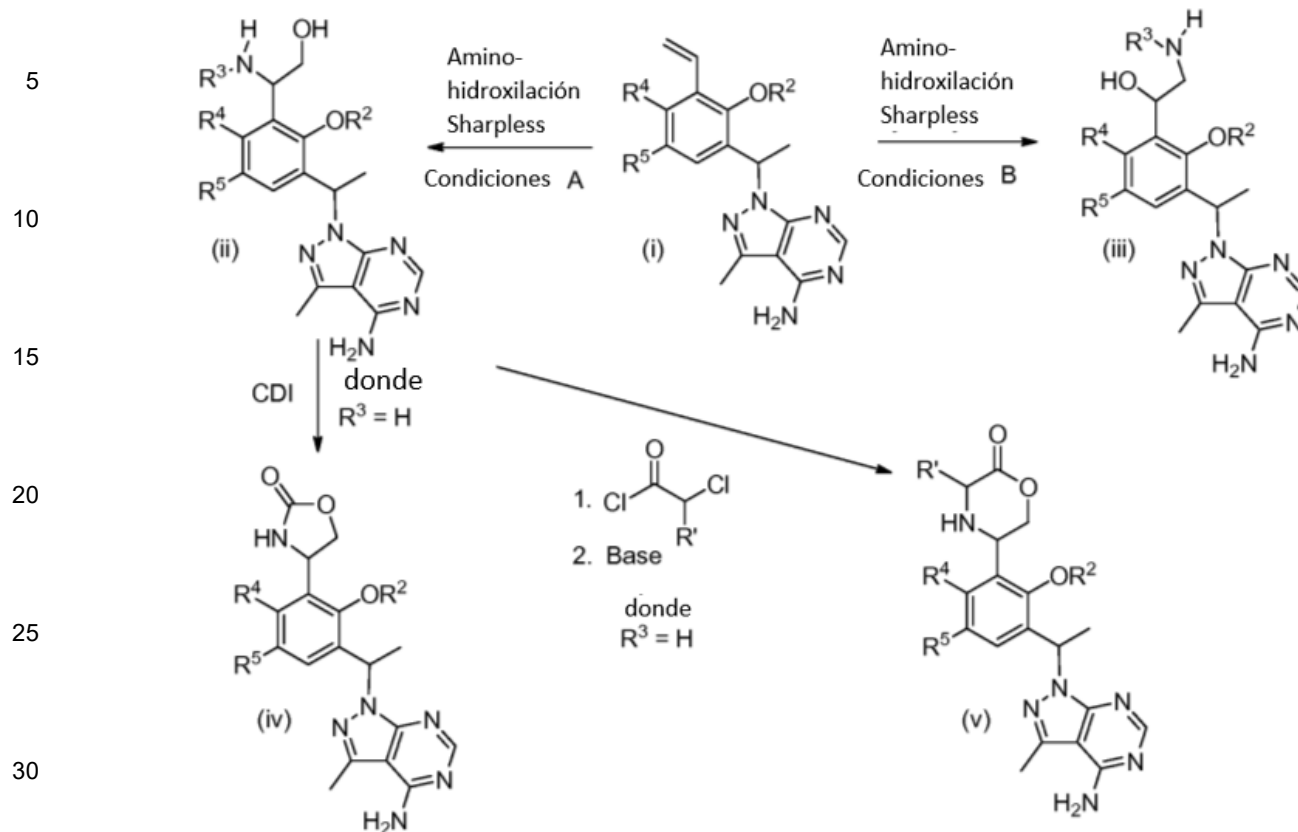
50

55

60

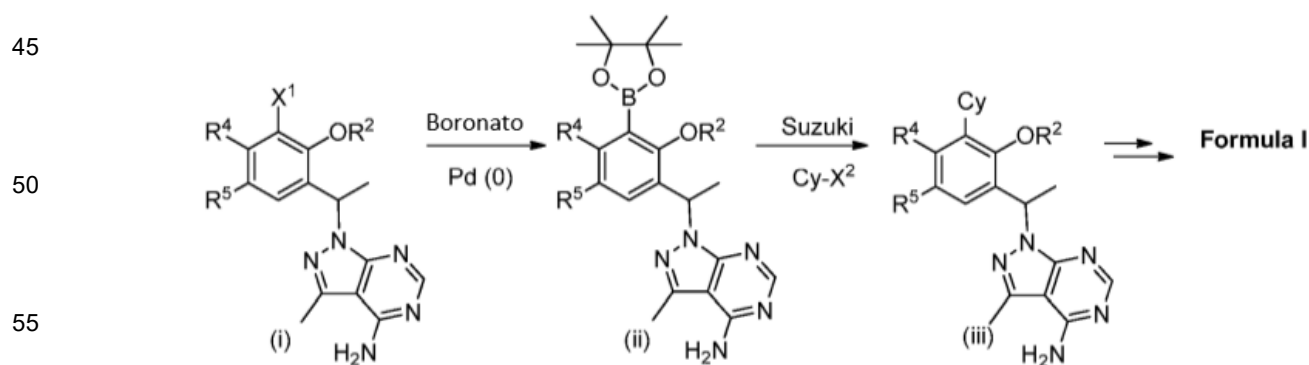
65

Esquema IX



35 [0145] Los compuestos de Fórmula I se pueden sintetizar como se muestra en el Esquema X. El grupo halo (por ejemplo, X¹ = Cl, Br, I) de (i) puede convertirse en el éster de boronato (ii) en condiciones estándar (p. ej., éster de boronato de pináculo en presencia de un catalizador de paladio(0), tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)). El boronato (ii) puede hacerse reaccionar con un arilhaluro o heteroarilhaluro (por ejemplo, R³-X²) en condiciones de Suzuki (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y un base, tal como Na² CO₃) para dar la fórmula (iii). La fórmula (iii) se puede convertir a la fórmula I usando las condiciones de reacción descritas en los esquemas I, II o III.

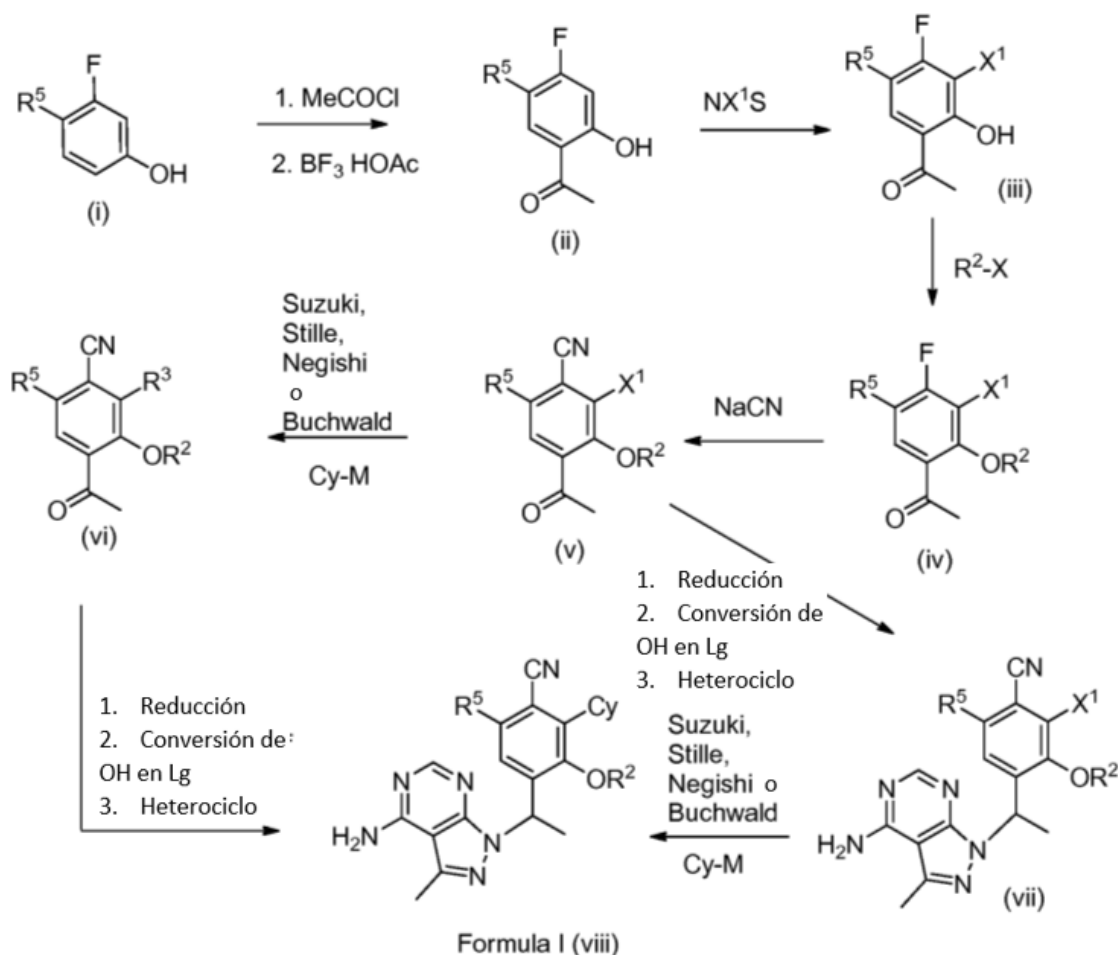
Esquema X



60 [0146] Los compuestos de fórmula I, donde R⁴ = F o CN, se pueden formar como se muestra en el Esquema XI. El compuesto (i) puede acilarse con un reactivo de acilación adecuado (p. ej., Me-COCl) para formar un éster que puede reorganizarse en condiciones de ácido de Lewis (p. ej., complejo BF₃/HOAc) para proporcionar cetona (ii). La cetona (ii) se puede halogenar con N-clorosuccinamida, N-bromosuccinamida o N-yodosuccinamida para dar fenol (iii), donde X¹ = Cl, Br, o I. El compuesto (iii) puede alquilarse (por ejemplo, R²-X y una base, como NaH o Na₂CO₃; o bajo condiciones de Mitsunobu) para proporcionar el éter (iv). El grupo fluoro de (iv) puede desplazarse (por ejemplo, con NaCN o KCN) para dar el derivado ciano (v). El grupo halo de (v) se puede acoplar a Cy-M, donde M es un ácido borónico, un éster borónico o un metal apropiadamente sustituido (por ejemplo, Cy-M es Cy-B(OH)₂, CySn(Bu)₄, o Zn-

Cy), en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (por ejemplo, una base de bicarbonato o carbonato) o condiciones estándar de Negishi (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)), para dar un derivado de fórmula (vi). Alternativamente, Cy-M puede ser una amina cíclica (donde M es H y está unido al nitrógeno de la amina) y se acopla al compuesto (v) mediante calentamiento en base o en condiciones de Buchwald (por ejemplo, en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (p. ej., una base de alcóxido)) para proporcionar cetona (vi). La reducción de la cetona (vi) con un reactivo adecuado, tal como tetrahidroborato de sodio o el reactivo Corey CBS puede proporcionar el alcohol que puede ser convertido a un cojinete derivado de un grupo saliente, (por ejemplo, Lg es el cloruro a través de la reacción con cloruro cianúrico o mesilato por reacción con anhídrido metanosulfónico) y después se hace reaccionar con 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina en condiciones básicas (por ejemplo, NaH o CsCO₃ o K₂CO₃) para dar un compuesto de Fórmula I (viii). Alternativamente, los dos últimos pasos se pueden invertir para que la cetona (v) se pueda reducir para dar un analcohol que se convierte en un grupo saliente y se desplaza primero con el heterociclo y luego se realiza el acoplamiento de Suzuki, Stille, Negishi o Buchwald para dar compuestos de fórmula I (viii). Los derivados fluorados (iv) también pueden convertirse en compuestos de Fórmula I eliminando el paso de cianación en el Esquema XI.

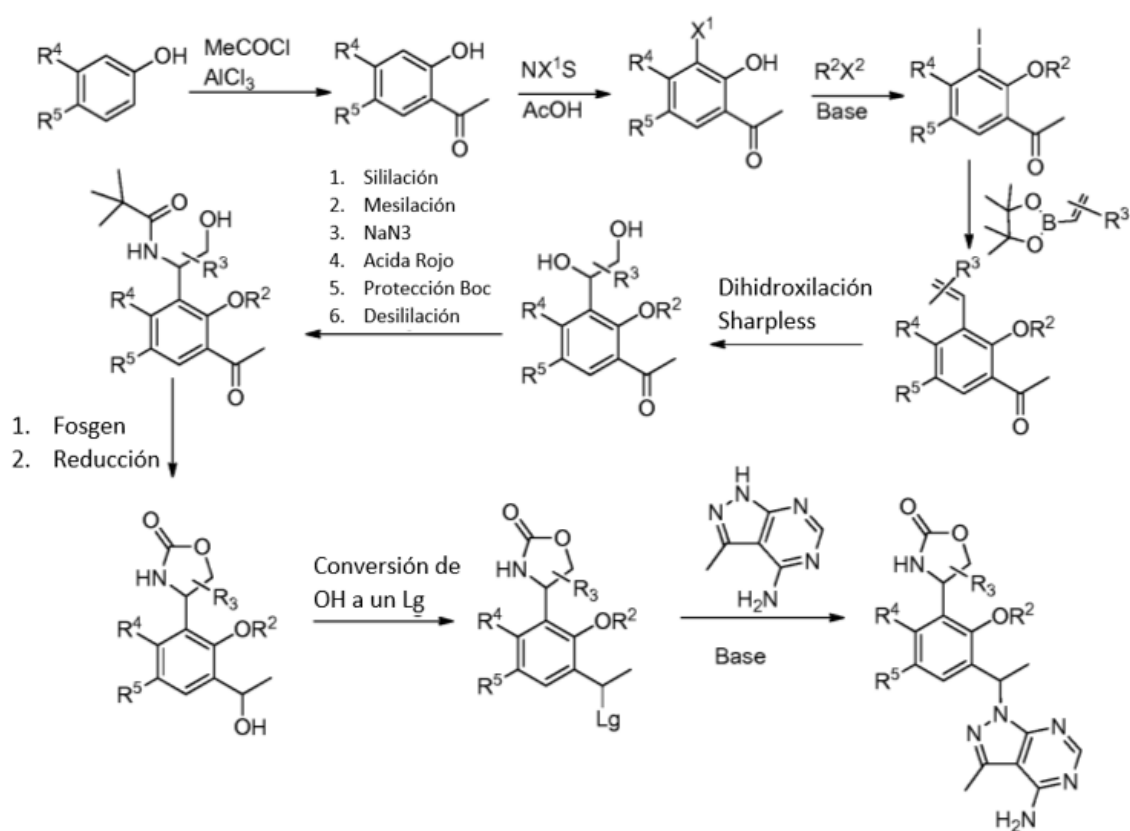
Esquema XI



[0147] Los compuestos de Fórmula I pueden también estar formados como se muestra en el Esquema XII. El compuesto (i) se puede acilar con un reactivo de acilación adecuado (p. ej., Me-COCl) para formar un éster que se puede reorganizar en condiciones de ácido de Lewis (p. ej., complejo AlCl₃ o BF₃/HOAc) para proporcionar cetona (ii). La halogenación de cetona (ii) usando NX¹S (p. ej., NX¹S = *N*-clorosuccinamida, *N*-bromosuccinamida o *N*-yodosuccinamida) puede dar el compuesto (iii), donde X¹ = Cl, Br o I. El fenol puede ser convertido en un éter (iv) usando condiciones estándar (por ejemplo, base inorgánica, como K₂CO₃, y un haluro de alquilo, como Et-I). El grupo halo de (iv) se puede acoplar a R³-M, donde M es un ácido borónico, un éster borónico o un metal apropiadamente sustituido (por ejemplo, R³-M es R³-B(OH)₂, R³-Sn(Bu)₄, o Zn-R³ y R³ son olefinas sustituidas o no sustituidas, como el vinilo) en condiciones estándar de Suzuki o condiciones estándar de Stille (p. ej., en presencia de un catalizador de paladio(0), como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) y una base (p. ej., una base de bicarbonato o carbonato) para dar un derivado de fórmula (v). El alqueno se puede dihidroxilar usando condiciones de Sharpless para proporcionar el

diol (vi). Mejora de un enantiómero del el alcohol secundario se puede lograr utilizando métodos de dihidroxilación asimétrica Sharpless estándar. El alcohol secundario se puede convertir en la amina protegida con *N*-Boc a través de un proceso de 6 pasos (por ejemplo, protección de sililo (por ejemplo, TBS-Cl y DIEA) del alcohol primario, mesilación de alcohol secundario, desplazamiento del mesilato con NaN_3 , reducción de la azida con PH_3P , protección Boc de la amina primaria resultante y luego la desprotección del grupo protector de sililo en el alcohol primario con TBAF) para proporcionar aminoalcohol (vii). El aminoalcohol (vii) se puede convertir en oxazolidinona mediante tratamiento con fosgeno y la posterior reducción de la cetona con un reactivo adecuado, como el tetrahidroborato de sodio o el borohidruro de sodio puede proporcionar el alcohol (viii) que se puede convertir en un derivado que contenga un grupo saliente (ix) (por ejemplo, Lg es cloruro por reacción con cloruro cianúrico o mesilato por reacción con anhídrido metanosulfónico). Finalmente, el compuesto (ix) puede hacerse reaccionar con un heterociclo apropiado (x) (por ejemplo, 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina o 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidina-5(8*H*)-ona) en condiciones básicas (por ejemplo, NaH o Cs_2CO_3 o K_2CO_3) para dar un compuesto de Fórmula I (xi).

Esquema XII



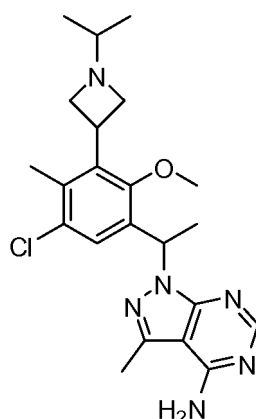
[0148] La invención se describirá con mayor detalle por medio de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, y no pretenden limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que se pueden cambiar o modificar para obtener esencialmente los mismos resultados. Se ha encontrado que los compuestos de los Ejemplos son inhibidores de PI3K de acuerdo con al menos un ensayo descrito aquí.

EJEMPLOS

[0149] Los siguientes ejemplos de compuestos que contienen uno o más centros quirales se obtuvieron en forma de racemato o como mezclas isoméricas, a menos que se especifique lo contrario. La estequiometría de sal que indica cualquiera de los siguientes productos se entiende como solo para indicar una estequiometría probable, y no debe interpretarse para excluir la posible formación de sales en otras estequiometrías. Las abreviaturas "h" y "min" se refieren a hora(s) y minuto(s), respectivamente.

Ejemplo 1. 1-{1-[5-Cloro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo}-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

[0150]



2 - TFA

Paso 1. 1-(5-cloro-2-hidroxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona

[0151] A una solución agitada de 1-(5-cloro-2-hidroxi-4-metilfenilo)etanona (de Oakwood, 50,0 g, 271 mmol) en ácido acético (300 ml) se añadió *N*-yodosuccinimida (73,1 g, 325 mmol) y la mezcla resultante se agitó en una manta calefactora entre 60 ~ 80°C durante 3,5 horas, luego se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se añadió agua (500 ml) a la mezcla en porciones, lo que provocó la formación de un sólido oscuro. Después de agitar durante 10 minutos, los sólidos se filtraron y se lavaron con agua adicional. Los sólidos de color marrón claro a oscuro se secaron al vacío durante 4 horas y luego se secaron al aire durante el fin de semana para dar 81,3 g (97%) del producto deseado. LCMS calculada para C₉H₉ClIO₂ (M+H)⁺: m/z = 310,9; Encontrado: 311,0. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 13,21 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,63 (s, 3 H) ppm.

Paso 2. 1-(5-cloro-3-yodo-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona

[0152] Carbonato de potasio (72,4 g, 524 mmol) se añadió a una mezcla de 1-(5-cloro-2-hidroxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona (81,3 g, 262 mmol) y yoduro de metilo (19,6 ml, 314 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (250 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió agua (500 ml) y se agitó durante 15 minutos. Los sólidos oscuros se filtraron y se secaron al vacío para dar 42,3 g del producto deseado. El filtrado se extrajo con EtOAc (4x). Los filtrados combinados se lavaron con agua (2x) y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. Los sólidos se secaron al vacío para dar 37,2 g adicionales del producto deseado. El producto se usó sin purificación adicional. LCMS calculada para C₁₀H₁₁ClIO₂ (M+H)⁺: m/z = 324,9; Encontrado: 325,0. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,62 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,62 (s, 3 H) ppm.

Paso 3. 3-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0153] Se suspendió zinc (1,71 g, 26,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (45,0 ml) y se añadió 1,2-dibromoetano (210 µl, 2,5 mmol). La mezcla se calentó a 60°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió clorotrimetilsilano (330 µl, 2,6 mmol) y se agitó a 60°C durante 10 minutos y se enfrió a temperatura ambiente. Luego se añadió una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (de Oakwood, 6,25 g, 22,1 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (5,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. 1-(5-cloro-3-yodo-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (5,00 g, 15,4 mmol), tri-(2-furilo)fosfina (358 mg, 1,54 mmol) y dipaladio tris(dibencilidenoacetona) (0) (0,70 g, 0,77 mmol) se añadieron en orden y la mezcla de reacción se calentó a 70°C y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo (EtOAc) y solución saturada de NH₄Cl. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (2x). Los orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El residuo se purificó sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 0-30% en hexanos para dar 3,0 g (55%) del producto deseado como un sólido naranja. LCMS calculada para C₁₈H₂₄ClNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 376,1; Encontrado: 376,0. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,52 (s, 1H), 4,32, (m, 2H), 4,16 (m, 3H), 3,66 (s, 3H), 2,59 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,45 (s, 9H) ppm.

PaSO₄. 3-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0154] A una solución de 3-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo (1,3 g, 3,7 mmol) en metanol (20 ml) agitando a 0°C se añadió tetrahidrobórato de sodio (0,167 g, 4,41 mmol). La mezcla se agitó a 0 ~ 5°C durante 1 hora. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar 1,3 g (100%) del producto deseado. LCMS calculada para C₁₈H₂₆ClNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 378,2; Encontrado: 378,1. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,37 (s, 1H), 5,10 (q, 1H), 4,30 (m, 2H), 4,14 (m, 3H), 3,63 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,48 (d, 3H), 1,44 (s, 9H) ppm.

Paso 5. 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0155] El cloruro cianúrico (de Aldrich, 1,22 g, 6,62 mmol) se pesó en un matraz y se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,512 ml, 6,62 mmol). Después de agitar durante unos minutos, una solución de 3-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,5 g, 4,2 mmol) en cloruro de metileno (30 ml) se añadió. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua y luego se diluyó con diclorometano. Las capas se separaron y los orgánicos se lavaron con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se concentró. El residuo resultante se purificó sobre gel de sílice, eluyendo con 0-35% de EtOAc en hexanos para dar el producto deseado (1,36 g, 86%). LCMS calculada para C₁₃H₁₇ClNO (M-Cl-Boc + H)⁺: m/z = 238,1; Encontrado: 238,1. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,46 (s, 1H), 5,44 (q, 1H), 4,32 (m, 2H), 4,18-4,10 (m, 3H), 3,67 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 1,79 (d, 3H), 1,44 (s, 9H) ppm.

Paso 6. 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

[0156] A temperatura ambiente, hidruro de sodio (0,32 g, 8,0 mmol) se añadió a una suspensión de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (de ChemBridge, 0,59 g, 4,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (20 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 25 minutos, tiempo durante el cual la suspensión se convirtió en una solución casi transparente. A la mezcla resultante se le añadió una solución de 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,35 g, 3,61 mmol, del Ejemplo 1, paso 5) en *N,N*-dimetilformamida (10 ml). La mezcla se agitó a 50°C durante la noche. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2x). Los combinados extractos se lavaron con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo resultante se purificó sobre gel de sílice, se eluyó con MeOH al 0-10% en diclorometano para dar 1,03 g (59%) del producto deseado como una goma amarilla. Los productos racémicos se aplicaron en una columna Phenomenex Lux-Cellulose 2 (21,1x250 mm, tamaño de partícula de 5 micras), eluyendo con etanol al 10% en hexanos a un caudal de 18 ml/min, 4 mg/inyección, para proporcionar dos enantiómeros. El tiempo de retención del primer pico fue de 8,34 min y el tiempo de retención para el segundo pico fue de 10,92 min. Pico 1 (463 mg), LCMS calculada para C₂₄H₃₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 487,2; Encontrado: 487,1. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,21 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 6,30 (q, 1H), 5,40 (s, 2H), 4,23 (m, 2H), 4,17 ~ 4,00 (m, 3H), 3,57 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,76 (d, 3H), 1,37 (s, 9H) ppm.

Paso 7. 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-eloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina

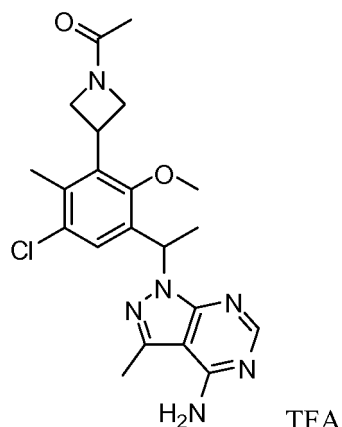
[0157] A una solución de 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (318 mg, 0,653 mmol) (pico 1 desde arriba) en cloruro de metileno (3,2 ml) cloruro de hidrógeno se añadió 4,0 M en 1,4-dioxano (1,6 ml, 6,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 75 minutos. Los disolventes se evaporaron y el residuo se secó al vacío para dar 0,30 g del producto deseado como la sal de bis-HCl. LCMS calculada para C₁₉H₂₄ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 387,2; Encontrado: 387,1.

Paso 8. 1-[1-[5-Cloro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

[0158] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (58 mg, 0,13 mmol), acetona (18,5 µL, 0,252 mmol) y trietilamina (54,5 µL, 0,391 mmol) en cloruro de metileno (1,0 mL) Se añadió resina de triacetoxiborohidruro de sodio (108 mg, 0,249 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía 0,05% de TFA, a un caudal de 30 ml/min) para dar 50 mg (60%) del producto deseado como la sal TFA. LCMS calculada para C₂₂H₃₀ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 429,2; Encontrado: 429,1. El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,47 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 6,29 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,52 (m, 2H), 4,21 (m, 1H), 4,15 (t, J = 9,8 Hz, 1H), 4,06 (t, J = 9,7 Hz, 1H), 3,53 (s, 3H), 3,39 ~ 3,27 (m, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,75 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,11 (dd, J = 6,0, 3,8 Hz, 6H) ppm.

Ejemplo 2. 1-[1-[3-(1-Acetilacetidina-3-ilo)-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-trifluoroacetato de amina

[0159]



Paso 1. 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina

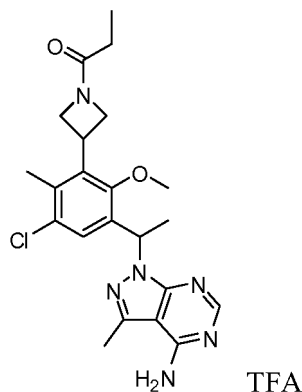
[0160] A una solución de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato racémico (146 mg, 0,300 mmol) (Intermedio racémico del Ejemplo 1 Paso 6) en cloruro de metileno (1,5 mL) se añadió cloruro de hidrógeno 4,0 M en 1,4-dioxano (0,75 ml, 3,0 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 h, los solventes se evaporaron y el residuo resultante se secó al vacío para dar 138 mg del producto deseado como la sal de HCl. LCMS calculada para $C_{19}H_{24}ClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 387,2; Encontrado: 387,1.

Paso 2. 1-[1-[3-(1-acetilacetidina-3-ilo)-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-trifluoroacetato de amina

[0161] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (20,0 mg, 0,0435 mmol, del Ejemplo 2, paso 1) y trietilamina (30,3 μ L, 0,217 mmol) en cloruro de metileno (0,20 mL) se añadió cloruro de acetilo (6,18 μ L, 0,0870 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Los solventes se evaporaron y el crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía 0,05% de TFA, a una velocidad de flujo de 30 mL/min) para dar el producto deseado como la sal TFA. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{26}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 429,2; Encontrado: 429,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,35 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,26 (q, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,28 ~ 4,20 (m, 2H), 4,01 (m, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,52 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,75 ~ 1,71 (m, 6H) ppm.

Ejemplo 3. 1-[1-[5-Cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(1-propionilacetidina-3-ilo)fenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-trifluoroacetato de amina

[0162]



[0163] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 2, con cloruro de propanoilo en lugar de cloruro de acetilo. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{22}H_{28}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 443,2; Encontrado: 443,2. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,30 (s, 1H), 7,33 (s, 1H), 6,25 (q, 1H), 4,49 (m, 1H), 4,27 ~ 4,18 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,54 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,05 (q, 2H), 1,72 (d, 3H), 0,93 (t, 3H) ppm.

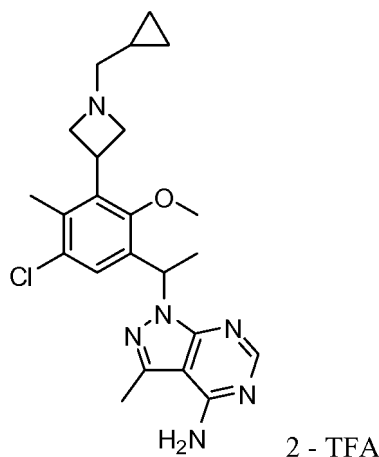
Ejemplo 4 1-(1-{5-cloro-3-[1-(ciclopropilmetilo)acetidina-3-ilo]-2-metoxi-4-metilfenilo}etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

5 [0164]

10

15

20



25

30

[0165] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 1, con 1-[1-(3-azetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 y ciclopropanocarboxaldehído (de Aldrich) en lugar de acetona. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₃H₃₀ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 441,2; Encontrado: 441,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,06 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,96 (q, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,24 (s, 3H), 2,68 (t, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,80 (s, 3H), 1,45 (d, 3H), 0,64 (m, 1H), 0,24 (m, 2H), 0,01 (m, 2H) ppm.

35

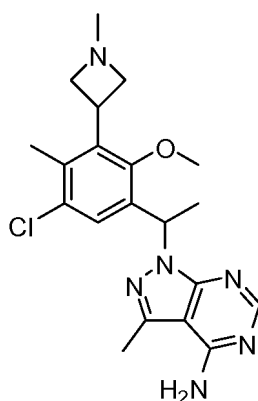
Ejemplo 5. 1-(1-[5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(1-metilacetidina-3-ilo)fenilo]etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0166]

40

45

50



55

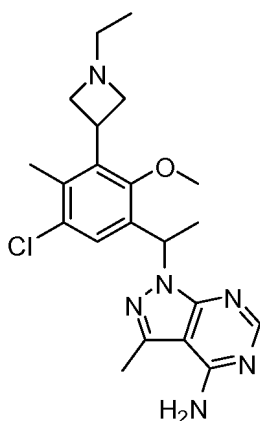
60

[0167] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 1, con 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 y formaldehído en lugar de acetona. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₀H₂₆ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 401,2; Encontrado: 401,2.

65

Ejemplo 6. 1-(1-[5-Cloro-3-(1-etilacetidina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

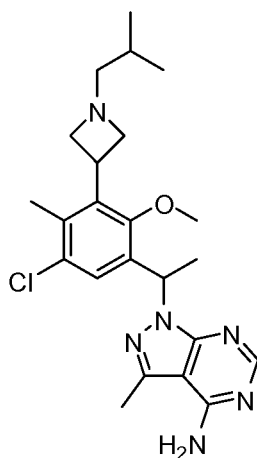
[0168]



[0169] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 1, con 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 y acetaldehído en lugar de acetona. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{28}ClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 415,2; Encontrado: 415,1

25 **Ejemplo 7. 1-{1-[5-Cloro-3-(1-isobutilacetidina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina**

[0170]

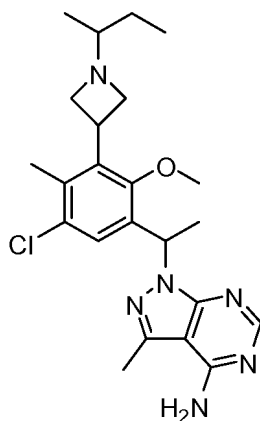


[0171] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 1, con 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 e isobutiraldehído en lugar de acetona. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{23}H_{32}ClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 443,2; Encontrado: 443,1. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,29 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 6,37 (q, 1H), 5,37 (s, 2H), 4,01 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,05 (t, 1H), 2,86 (t, 1H), 2,64 (s, 3H), 2,18 (d, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,82 (d, 3H), 1,62 (m, 1H), 0,89 (d, 6H) ppm.

55 **Ejemplo 8. 1-{1-[3-(1-sec-butylacetidina-3-ilo)-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina**

60 [0172]

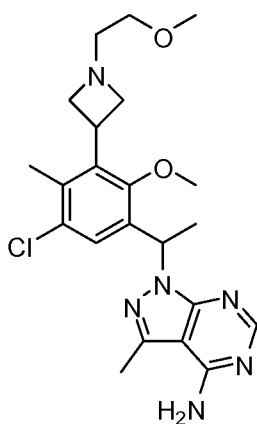
65



20 **[0173]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del ejemplo 1, con 1-[1-(3-acetidina 3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 y 2-butanona en lugar de acetona. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculada para $C_{23}H_{32}ClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 443,2; Encontrado: 443,1

25 **Ejemplo 9. 1-(1-{5-Cloro-2-metoxi-3-[1-(2-metoxietilo)acetidina-3-ilo]-4-metilfenilo}etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina**

30 **[0174]**

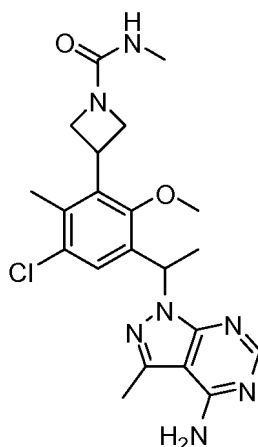


50 **[0175]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 1, con 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-dihidrocloruro de amina racémico del Ejemplo 2, Paso 1 y metoxiacetaldehído en lugar de acetona. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{22}H_{30}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 445,2; Encontrado: 445,2.

55 **Ejemplo 10. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-N-metilacetidina-1-carboxamida**

60 **[0176]**

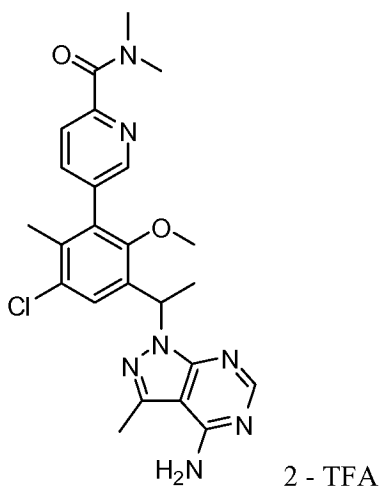
65



[0177] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 2, con isocianato de metilo en lugar de cloruro de acetilo. El producto en bruto se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{27}ClN_7O_2$ (M+H)⁺: m/z = 444,2; Encontrado: 444,2.

Ejemplo 11. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

[0178]



Paso 1. 1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona

[0179] A una solución agitada de 1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (5,00 g, 25,2 mmol, de Oakwood) en ácido acético (100 ml) se añadió *N*-bromosuccinimida (4,93 g, 27,7 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 100°C durante 18 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío, luego se neutralizó con bicarbonato de sodio sat., filtrado por succinimida insoluble. El filtrado se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y luego se concentraron a sequedad a presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 50% de EtOAc en hexanos, para dar los productos deseados (2,66 g, 38%). LCMS calculada para $C_{10}H_{11}BrClO_2$ (M+H)⁺: m/z = 277,0; encontrado: 277,0. ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7,70 (1H, s), 3,77 (3H, s), 2,57 (3H, s), 2,50 (3H, s) ppm.

Paso 2. 5-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0180] A una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (0,38 g, 1,4 mmol) y *N,N*-dimetil-5-(1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carboxamida (de PepTech, 0,46 g, 1,6 mmol) en 1,4-dioxano (6 ml), se añadió carbonato de potasio (0,38 g, 2,7 mmol) en agua (2ml). La mezcla de reacción se burbujó con N₂. Se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,095 g, 0,082 mmol) y la reacción se agitó durante una noche a 100°C. La reacción

se diluyó con agua, se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0-100% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado. LCMS calculada para C₁₈H₂₀ClN₂O₃ (M+H)⁺: m/z = 347,1; Encontrado: 347,1

5 **Paso 3. 5-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida**

10 **[0181]** A una solución de 5-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida (106 mg, 0,306 mmol) en metanol (2ml) enfriado a 0°C se añadió tetrahidrobórato de sodio (14 mg, 0,37 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se inactivó con agua, se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para dar el alcohol crudo. LCMS calculada para C₁₈H₂₂ClN₂O₃ (M+H)⁺: m/z = 349,1; Encontrado: 349,1.

15 **Paso 4. 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida**

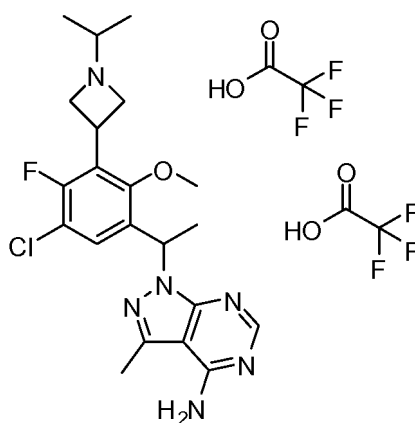
20 **[0182]** Se añadió cloruro cianúrico (85 mg, 0,46 mmol) a N,N-dimetilformamida (0,036 ml, 0,46 mmol) a temperatura ambiente. Después de la formación de un sólido blanco (10 minutos), se añadió cloruro de metileno (2ml), seguido de 5-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida (115 mg, 0,330 mmol, del Ejemplo 11, Paso 3). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua y luego se diluyó con diclorometano. La fase orgánica se lavó con solución sat. de NaHCO₃, agua y salmuera, luego secada sobre MgSO₄, concentrada. El residuo se purificó sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 80% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (76 mg, 63%). LCMS calculada para C₁₈H₂₁Cl₂N₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 367,1; Encontrado: 367,0.

25 **Paso 5. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)**

30 **[0183]** A una solución de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (6,1 mg, 0,041 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,4 ml) se añadió hidruro de sodio (60%, 2,0 mg, 0,082 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. A la mezcla resultante se le añadió una solución de 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida (15,0 mg, 0,0408 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla cruda se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a un caudal de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₄H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,1.

35 **Ejemplo 13. 1-{1-[5-Cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)**

40 **[0184]**



60 **Paso 1. 1-(5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona**

65 **[0185]** A 4-cloro-3-fluorofenol (de Aldrich, 20 g, 100 mmol) se añadió cloruro de acetilo (14,1 ml, 199 mmol) bajo N₂ con agitación. La mezcla resultante se convirtió rápidamente en una solución transparente a temperatura ambiente y se calentó a 60°C durante 2 horas. A la mezcla resultante se le añadió tricloruro de aluminio (25,0 g, 187 mmol) en porciones y la mezcla de reacción se calentó a 180°C durante 30 minutos. Los sólidos se disolvieron lentamente a alta temperatura. La mezcla de reacción se enfrió luego a temperatura ambiente mientras la matriz se agitó cuidadosamente para que el sólido formara una capa delgada dentro del matraz y luego se inactivó lentamente con 1,0 N HCl (300 ml) mientras se enfriaba en un baño de hielo y se agitó durante una noche. El precipitado amarillo se

lavó con agua y se secó al vacío para dar el producto deseado como un sólido amarillo (23,8 g), que se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2. 1-(5-Cloro-4-fluoro-2-hidroxi-3-yodofenilo)etanona

[0186] Una solución de 1-(5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona (23,8 g, 126 mmol) en ácido acético (100 ml) se trató con *N*-yodosuccinimida (34,1 g, 151 mmol) y se agitó a 70°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con EtOAc y se inactivó con solución sat. de NaHCO₃ hasta que cesaron las burbujas. Las capas orgánicas se separaron, se lavaron con agua, se secaron sobre MgSO₄ y se separaron para dar el producto deseado que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3. 1-(5-Cloro-4-fluoro-3-yodo-2-metoxifenilo)etanona

[0187] 1-(5-Cloro-4-fluoro-2-hidroxi-3-yodofenilo)etanona (13 g, 41 mmol) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (41,3 ml). Se añadió yoduro de metilo (3,9 ml, 62 mmol) seguido de carbonato de potasio (11 g, 83 mmol). La reacción se calentó a 60°C durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter. Las capas orgánicas se separaron y combinaron, se lavaron con agua, se secaron sobre MgSO₄, se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 10% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (10 g, 70%). LCMS calculado para C₉H₈ClFIO₂ (M+H)⁺: m/z = 328,9; Encontrado: 328,9.

Paso 4. 3-(3-acetilo-5-cloro-6-fluoro-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0188] El zinc (0,682 g, 10,4 mmol) se suspendió con 1,2-dibromoetano (0,0598 ml, 0,694 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (12 ml). La mezcla se calentó a 70°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió clorotrimetilsilano (0,088 ml, 0,69 mmol) gota a gota y la agitación continuó durante 1 hora. Luego se añadió una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (2,5 g, 8,7 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10 ml) y la mezcla se calentó a 40°C durante 1 hora antes de una mezcla de 1-(5-cloro-4-fluoro-3-yodo-2-metoxifenilo)etanona (3,0 g, 9,1 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (0,16 g, 0,17 mmol) y tri-(2-furilo) Se añadió fosfina (0,081 g, 0,35 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió luego a temperatura ambiente y se repartió entre éter y solución sat. de NH₄Cl. Las capas orgánicas se lavaron con agua, se secó sobre MgSO₄, se concentró y se purificó sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 25% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (0,8 g). LCMS calculada para C₁₇H₂₁ClFNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 380,1; Encontrado: 380,1.

Paso 5. 3-[3-cloro-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0189] A una solución de terc-butilo 3-(3-acetilo-5-cloro-6-fluoro-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato (0,17 g, 0,48 mmol) en metanol (3 ml) enfriado a 0°C se añadió tetrahidrobórato de sodio (0,022 g, 0,57 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se inactivó con agua, se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para dar el alcohol en bruto (0,19 g). LCMS calculada para C₁₇H₂₃ClFNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 382,1; Encontrado: 382,0.

Paso 6. 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-2-fluoro-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0190] Se añadió cloruro cianúrico (140 mg, 0,78 mmol) a *N,N*-dimetilformamida (0,059 ml, 0,77 mmol) a temperatura ambiente. Después de la formación de un sólido blanco (aprox. 10 minutos), se añadió cloruro de metileno (4 ml), seguido de *tert*-butilo 3-[3-cloro-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato (197 mg, 0,547 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua y luego se diluyó con diclorometano. Las fases orgánicas se lavaron con solución sat. NaHCO₃, agua y salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El residuo resultante se purificó en gel de sílice (eluyendo con 0 a 30% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (110 mg, 53%).

Paso 7. 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-fluoro-2-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

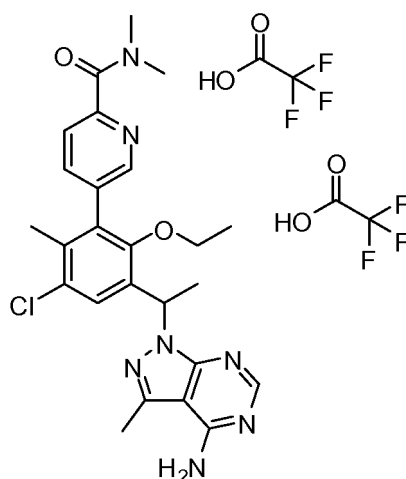
[0191] A una solución de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (7,9 mg, 0,053 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,6 ml) se añadieron hidruro de sodio (60%, 2,5 mg, 0,11 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. A la mezcla se le añadió una solución de 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-2-fluoro-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (20 mg, 0,053 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 35°C durante la noche, luego se inactivó con agua, se extrajo con éter. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para proporcionar el producto deseado que se utilizó en el siguiente paso directamente. LCMS calculada para C₂₃H₂₉ClFN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 491,2; Encontrado: 491,1.

Paso 8. 1-[1-[5-Cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

[0192] Una mezcla de terc-butilo del ácido 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-fluoro-2- metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato (14 mg, 0,028 mmol) en cloruro de metileno (0,2 mL) se trató con cloruro de hidrógeno 4,0 M en dioxano (0,2 mL, 0,8 mmol) a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se eliminó el disolvente para dar 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina sal de HCl. A una mezcla de la sal de HCl bruta en acetonitrilo (0,1 ml)/metanol (0,1 ml)/tetrahidrofurano (0,1 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,6 mmol), seguido de acetona (0,050 ml, 0,68 mmol)). La mezcla se agitó durante 30 minutos antes de la adición de triacetoxiborohidruro de sodio (0,030 g, 0,14 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se inactivó y se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como Sal TFA. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{27}ClFN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 433,2; Encontrado: 433,1.

Ejemplo 14. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

[0193]



Paso 1 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona

[0194] Se disolvió 1-(5-cloro-2-hidroxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona (18,9 g, 60,9 mmol) (del Ejemplo 1, Paso 1) en *N,N*-dimetilformamida (60,8 ml). Se añadió yodetano (7,3 ml, 91 mmol) seguido de carbonato de potasio (17 g, 120 mmol). La reacción se calentó a 60°C durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua, se secaron sobre MgSO₄, se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0-10% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (18,9 g, 91,7%). LCMS calculada para $C_{11}H_{13}ClIO_2$ (M+H)⁺: m/z = 339,0; Encontrado: 339,0.

Paso 2. 5-(3-Etilo-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0195] A una mezcla de 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona (0,69 g, 2,0 mmol) y *N,N*-dimetilo-5-(1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carboxamida (0,68 g, 2,4 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml), se añadió carbonato de potasio (0,56 g, 4,1 mmol) en agua (3 ml, 200 mmol). La reacción se burbujeó con N₂. Se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,24 g, 0,20 mmol) y se burbujeó con N₂. La reacción se agitó durante la noche a 95°C. La reacción se diluyó con agua, se extrajo con EtOAc. Las capas Orgnic combinadas se secaron sobre MgSO₄, se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 90% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (0,6 g, 82%). LCMS calculada para $C_{19}H_{22}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 361,1; Encontrado: 361,0.

Paso 3. 5-[3-cloro-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0196] A una solución de 5-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo)-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (0,60 g, 1,7 mmol) en metanol (10 ml) enfriado a 0°C se añadió tetrahidroborato de sodio (0,075 g, 2,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se inactivó con agua, se extrajo con EtOAc. Los extractos se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para dar el alcohol en bruto (0,6 g). LCMS calculada para $C_{19}H_{24}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 363,1; Encontrado: 363,0.

Paso 4. 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0197] Se añadió cloruro cianúrico (0,43 g, 2,3 mmol) a *N,N*-dimetilformamida (0,18 ml, 2,3 mmol) a temperatura

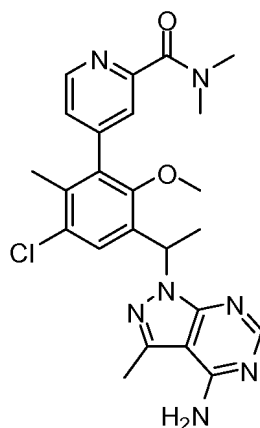
ambiente. Después de la formación de un sólido blanco (10 minutos), se añadió cloruro de metileno (10 ml), seguido de 5-[3-cloro-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)-2-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (0,6 g, 2 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se diluyó con diclorometano y se lavó con solución sat. de NaHCO₃. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se concentraron. El residuo se purificó en gel de sílice (eluyendo con 0 a 50% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (0,58, 90%). LCMS calculada para C₁₉H₂₃Cl₂NO₂ (M+H)⁺: m/z = 381,1; Encontrado: 381,0.

Paso 5. 5-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

[0198] A una solución de 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina (47 mg, 0,31 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (3 ml) se añadió hidruro de sodio (60%, 12,6 mg, 0,524 mmol) a 0°C y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente por 10 minutos. A la mezcla se le añadió una solución de 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (100 mg, 0,3 mmol, del Ejemplo 14, Paso 4) en *N,N*-dimetilformamida (1 ml). La reacción se agitó a 35°C durante la noche. La reacción se interrumpió y se aplicó sobre RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₅H₂₉ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 494,2; Encontrado: 494,1.

Ejemplo 16. 4-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0199]



Paso 1 1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol

[0200] Tetrahidroborato de sodio (0,31 g, 8,1 mmol) se añadió a una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol (del Ejemplo 11, Paso 1) (1,5 g, 5,4 mmol) en metanol (25 ml) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, luego se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 40% de EtOAc en hexanos (0,30 g, 90%).

Paso 2. 4-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piridina-2-carbonitrilo

[0201] Una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol (0,30 g, 1,1 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carbonitrilo (de Combi-Blocks, 0,27 g, 1,2 mmol), carbonato de sodio (230 mg, 2,1 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo con diclorometano (1:1) (100 mg, 0,13 mmol) en acetonitrilo (8 ml)/agua (2 ml) se desgasificó y después se rellenó con N₂. La reacción se agitó a 95°C durante 2 horas, luego se enfrió y se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 40% de EtOAc en hexanos (0,249 g, 75%). LCMS calculada para C₁₆H₁₆ClN₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 303,1; Encontrado: 303,0

Paso 3. 4-[3-Cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piridina-2-carbonitrilo

[0202] Una mezcla de cloruro cianúrico (170 mg, 0,94 mmol) y *N,N*-dimetilformamida (73 µL, 0,94 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego una solución de 4-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piridina-2-carbonitrilo (190 mg, 0,628 mmol) en cloruro de metileno (4 ml) se añadió y la reacción se agitó

a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se usó directamente en el siguiente paso sin purificación (121 mg, 60%). LCMS calculada para C₁₆H₁₅Cl₂N₂O (M+H)⁺: m/z = 321,0; Encontrado: 321,0

5 **Paso 4.** 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo

10 **[0203]** Se añadió hidruro de sodio (20 mg, 0,50 mmol) a una mezcla de 4-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piridina-2-carbonitrilo (90 mg, 0,28 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (63 mg, 0,42 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (4 ml) y la reacción se agitó a 30°C durante la noche. La mezcla se enfrió, se trató con agua y luego se filtró para proporcionar el producto deseado. LCMS calculada para C₂₂H₂₁ClN₇O (M+H)⁺: m/z = 434,1; Encontrado: 434,2

15 **Paso 5.** 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ácido carboxílico

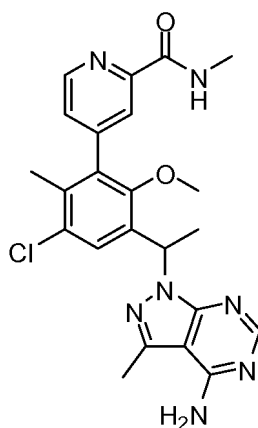
20 **[0204]** Hidróxido de sodio (1,0 M) en agua (0,70 ml, 0,70 mmol) se añadió a una mezcla de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo (0,060 g, 0,14 mmol) en etanol (1,0 ml) y la mezcla resultante se calentó a 95°C durante 6 horas. En este momento, se añadió HCl *conc.* para ajustar el pH a ~ 3. El disolvente se eliminó y el residuo se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculada para C₂₂H₂₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 453,1; Encontrado: 453,2

25 **Paso 6.** 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida

30 **[0205]** Dimetilamina 2.0 M en THF (0,14 ml, 0,28 mmol) se añadió a una solución de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ácido carboxílico (9,6 mg, 0,021 mmol) y benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (10 mg, 0,03 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,7 mL) a temperatura ambiente seguido de la adición de trietilamina (8,8 µL, 0,064 mmol). La reacción se agitó durante 1 hora. La mezcla cruda se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₄H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,2.

35 **Ejemplo 17.** 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N*-metilpicolinamida

40 **[0206]**



60 **[0207]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 16, Paso 6, con una solución 2,0 M de metilamina en THF reemplazando a la dimetilamina 2,0 M en THF. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₃H₂₅ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 466,2; Encontrado: 466,2.

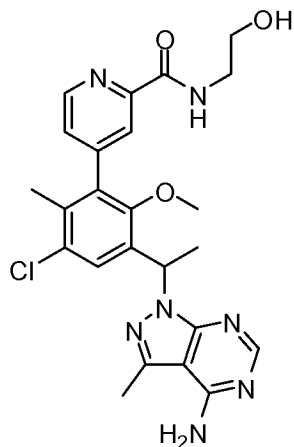
65 **Ejemplo 18.** 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N*-(2-hidroxietilo)piridina-2-carboxamida

[0208]

5

10

15



20 **[0209]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 16, Paso 6, con etanolamina reemplazando la dimetilamina 2,0 M en THF. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{24}H_{27}ClN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 496,2; Encontrado: 496,2.

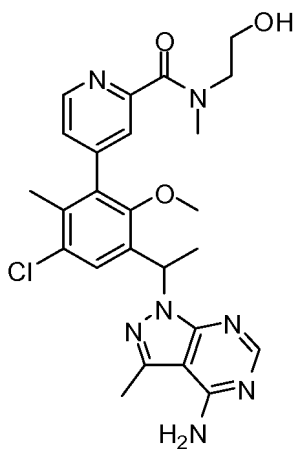
25 **Ejemplo 19.** 4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N-(2-hidroxietilo)-N-metilpiridina-2-carboxamida

30 **[0210]**

35

40

45



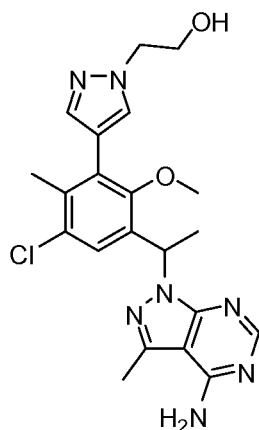
50 **[0211]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 16, Paso 6, con 2-(metilamino)etanol reemplazando 2,0 M dimetilamina en THF. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{25}H_{29}ClN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 510,2; Encontrado: 510,2.

55 **Ejemplo 20.** 2-(4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-1H-pirazol-1-ilo)etanol

60 **[0212]**

65

70



Paso 1. 3-Bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-metoxi-2-metilbenceno

[0213] Una mezcla de cloruro cianúrico (1,7 g, 9,2 mmol) y *N,N*-dimetilformamida (710 μ l, 9,2 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se añadió una solución de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol (del Ejemplo 16, Paso 1) (1,72 g, 6,15 mmol) en cloruro de metileno (34 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución sat. NaHCO_3 , agua, salmuera, secada sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 10% de EtOAc en hexanos (1,01 g, 60%).

Paso 2. 1-[1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0214] Se añadió hidruro de sodio (36 mg, 0,91 mmol) a una mezcla de 3-bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-metoxi-2-metilbenceno (150 mg, 0,503 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (110 mg, 0,76 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (8 ml) y la reacción se agitó a 30°C durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución sat. NaHCO_3 , agua, salmuera, secada sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 70% de EtOAc en CH_2Cl_2 (103 mg, 50%). LCMS calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{BrClN}_5\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 410,0$; Encontrado: 410. Los productos racémicos se aplicaron en una columna Phenomenex Lux-Cellulose 1 (21,1x250 mm, tamaño de partícula de 5 micras), eluyendo con etanol al 5% en hexanos a un caudal de 18 ml/min, 13 mg/inyección, para proporcionar dos enantiómeros.

Paso 3. 1-(2-[[terc-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol

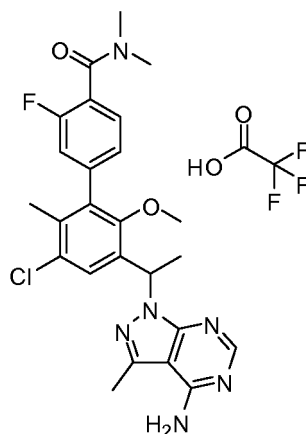
[0215] Se añadió *terc*-butóxido de potasio (1,0 M) en THF (0,60 ml, 0,60 mmol) a una solución de 4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol (0,1 g, 0,5 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (1,5 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos, luego se enfrió a 0°C y se trató con (2-bromoetoxi) (*terc*-butilo)dimetilsilano (0,2 ml, 0,8 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución sat. NaHCO_3 , agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para proporcionar el producto bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc del 0 al 30% en hexanos. Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{BN}_2\text{O}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 353,2$; Encontrado: 353,1.

Paso 4. 2-(4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-1H-pirazol-1-ilo)etanol

[0216] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,026 g, 0,062 mmol) (quiral puro, primer pico del Paso 2), 1-(2-[[terc-butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol (0,024 g, 0,069 mmol), carbonato de sodio (13 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (6,1 mg, 0,0075 mmol) en acetonitrilo (0,5 ml)/agua (0,1 ml) se desgasificó y luego se rellenó con N_2 . La mezcla de reacción se agitó a 95°C durante 2 horas, luego se trató con HCl *conc.* (0,1 ml) y luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla cruda se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClN}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 442,2$; Encontrado: 442,2.

Ejemplo 21. 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-*N,N*,6'-trimetilbifenilo-4-trifluoroacetato de carboxamida

[0217]



Paso 1. 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-6'-metilbifenilo-4-carboxilato de metilo

[0218] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (60 mg, 0,15 mmol, quiral puro, primer pico del Ejemplo 20, Paso 2), [3-fluoro-4-(metoxicarbonilo)fenilo]ácido borónico (de Combi-Blocks, 0,041 g, 0,20 mmol), carbonato de sodio (36 mg, 0,34 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (6 mg, 0,007 mmol) en acetonitrilo (1,2 ml)/agua (0,3 ml) se aspiró y luego se rellenó con N₂. La reacción se agitó a 95°C durante 2 horas. A continuación, se retiró el solvente y la mezcla en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 70% de EtOAc en CH₂Cl₂, para dar el producto deseado (54 mg, 75%). LCMS calculada para C₂₄H₂₄ClFN₅O₃ (M+H)⁺: m/z = 484,2; Encontrado: 484,1

Paso 2. 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-6'-metilbifenilo-4-ácido carboxílico

[0219] Se añadió hidróxido de litio, monohidrato (13 mg, 0,31 mmol) a una solución de metilo 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-6'-metilbifenilo-4-carboxilato preparado anteriormente (0,030 g, 0,062 mmol) en metanol (0,2 ml)/tetrahidrofurano (0,2 ml)/agua (0,09 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, luego se trató con HCl conc. (60 µl) para ajustar el pH a 2. El disolvente se eliminó para proporcionar el producto bruto que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculada para C₂₃H₂₂ClFN₅O₃ (M+H)⁺: m/z = 470,1; Encontrado: 470,2

Paso 3. 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-N,N,6'-trimetilbifenilo-4-trifluoroacetato de carboxamida

[0220] Se añadió dimetilamina 2,0 M en THF (0,1 ml, 0,2 mmol) a una solución de 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-6'-metilbifenilo-4-ácido carboxílico (12 mg, 0,026 mmol) preparado anteriormente y benzotriazol-1-ioxitrina(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (20 mg, 0,04 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,7 mL) a temperatura ambiente seguido de la adición de trietilamina (11 µL, 0,077 mmol). La reacción se agitó durante 1 hora, se detuvo con agua. La mezcla cruda se aplicó sobre RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal TFA. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₅H₂₇ClFN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 497,2; Encontrado: 497,2.

Ejemplo 22. 3'-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5'-cloro-3-fluoro-2'-metoxi-N,6'-dimetilbifenilo-4-trifluoroacetato de carboxamida

[0221]

Paso 3. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo

5 [0226] Hidruro de sodio (20 mg, 0,50 mmol) se añadió a una mezcla de 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piridina-2-carbonitrilo (90 mg, 0,28 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (63 mg, 0,42 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (4 mL) y la reacción se agitó a 30°C durante la noche. La mezcla se trató con agua y luego se filtró para proporcionar el producto deseado. LCMS calculada para C₂₂H₂₁ClN₇O (M+H)⁺: m/z = 434,1; Encontrado: 434,2

10 Paso 4. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ácido carboxílico

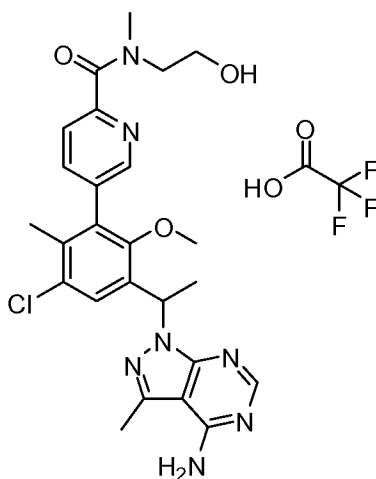
15 [0227] Hidróxido de sodio (1,0 M) en agua (0,70 ml, 0,70 mmol) se añadió a una mezcla de 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo (0,060 g, 0,14 mmol) en etanol (1,0 ml) La reacción se calentó a 95°C durante 6 horas, seguido de la adición de HCl conc. para ajustar el pH a ~ 3. El disolvente se eliminó y el residuo resultante se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculada para C₂₂H₂₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 453,1; Encontrado: 453,2

20 Paso 5. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-*N*-(2-hidroxietilo)trifluoroacetato de picolinamida

25 [0228] Etanolamina (15 µL, 0,25 mmol) se añadió a una solución de 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ácido carboxílico (9,6 mg, 0,021 mmol) y benzotriazol-1-ioxitrina hexafluorofosfato de(dimetilamino)fosfonio (10 mg, 0,03 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,7 mL) a temperatura ambiente seguido de la adición de trietilamina (8,8 µL, 0,064 mmol). La reacción se agitó durante 1 hora y luego se detuvo con agua. La mezcla cruda se aplicó sobre RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal TFA. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₄H₂₇ClN₇O₃ (M+H)⁺: m/z = 496,2; Encontrado: 496,2.

Ejemplo 24. 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N*-(2-hidroxietilo)-*N*-metilpiridina-2-trifluoroacetato de carboxamida

35 [0229]

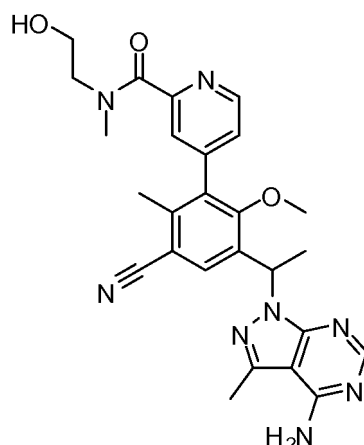


60 [0230] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 23, con 2-(metilamino)etanol reemplazando a etanolamina. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₅H₂₉ClN₇O₃ (M+H)⁺: m/z = 510,2; Encontrado: 510,2.

65 Ejemplo 40. 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-ciano-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N*-(2-hidroxietilo)-*N*-metilpiridina-2-carboxamida

[0231]

65



5

10

15

[0232] Preformación del catalizador: dimetilacetamida anhidra (DMA) purgada con una corriente suave de N₂ durante 30 minutos antes de su uso. Una solución 50 mM de H₂SO₄ se preparó con 10 ml dimetilacetamida y 26,8 µL de H₂SO₄ conc. y luego se purgó con N₂ durante 10 minutos. A un vial de 8 ml equipado con una barra de agitación magnética y una tapa de tabique se añadieron Pd(OAc)₂ (22,5 mg, 100 µmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (95,3 mg, 200 µmol). El vial se evacuó y se llenó con N₂ tres veces, se purgó con una corriente suave de N₂ durante 10 minutos. H₂SO₄ (2,0 ml, 50 mM en DMA) se añadió, y la mezcla de catalizador se agitó en un baño de aceite a 80°C durante 30 minutos para dar una solución café-marrón homogénea.

[0233] El catalizador anterior (0,05 ml) se añadió a una mezcla de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-N-(2-hidroxi-etilo)-N-metilpiridina-2-carboxamida (del Ejemplo 19) (4,0 mg, 0,0078 mmol), zinc (0,22 mg, 0,0034 mmol) y cianuro de zinc (0,92 mg, 0,0078 mmol) en N,N-dimetilacetamida (0,1 ml). La mezcla se desgasificó y luego la reacción se calentó a 120°C durante 1,5 horas. La mezcla cruda se aplicó sobre RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₆H₂₉N₈O₃ (M+H)⁺: m/z = 501,2; Encontrado: 501,2

Ejemplo 41. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilo-fenilo}-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

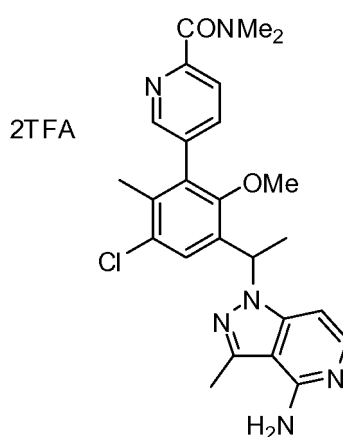
[0234]

40

45

50

55



Paso 1: N-(2,4-dimetoxibencilo)-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina-4-amina

[0235] Una solución de 4-cloro-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina (330 mg, 1,9 mmol) y 1-(2,4-dimetoxifenilo)metanamina (0,58 mL, 3,9 mmol) en 1-butanol se calentó en el microondas a 150°C durante 40 minutos. La purificación mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) dio el producto deseado (240 mg, 42%). LCMS para C₁₆H₁₉N₄O₂ (M+H)⁺: m/z = 299,1; Encontrado: 299,2.

65

Paso 2: 5-[3-cloro-5-(1-{4-[(2,4-dimetoxibencilo)amino]-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina-1-ilo)etilo]-6-metoxi-2-

metilfenilo]-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida

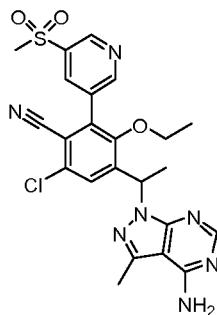
[0236] Una solución de *N*-(2,4-dimetoxibencilo)-3-metilo-1*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridina-4-amina (110 mg, 0,37 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2ml) se trató con hidruro de sodio (30 mg, 0,75 mmol) y se agitó a 20°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución de 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (130 mg, 0,34 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (1 ml) y se calienta a 50°C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un residuo crudo. La purificación mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) dio el producto deseado (110 mg, 49%). LCMS para C₃₄H₃₈ClN₆O₄ (M+H)⁺: m/z = 629,3; Encontrado: 629,1.

Paso 3: *S*-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

[0237] Una solución de 5-[3-cloro-5-(1-{4-[(2,4-dimetoxibencilo)amino]-3-metilo-1*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridina-1-ilo)etilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (85 mg, 0,14 mmol) en cloruro de metileno (2ml) se trató con ácido trifluoroacético (2ml) y se agitó a 20°C durante 3 horas y a 40°C durante 20 minutos. La purificación mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) dio el producto deseado (44 mg, 46%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS para C₂₅H₂₈ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 479,2; Encontrado: 479,0. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,8 (br s, 0,5 H), 8,50 (br s, 0,5 H), 8,37 (br s, 2 H), 7,91 - 7,86 (m, 0,5 H), 7,80 - 7,75 (m, 0,5 H), 7,68 - 7,58 (m, 3 H), 7,17 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 6,19 (q, *J* = 6,9 Hz, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 3,01 (s, 3 H), 2,94 (s, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 2,05 (s, 3 H), 1,83 (d, *J* = 6,9 Hz, 3 H).

Ejemplo 43. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[5-(metilsulfonil)piridina-3-ilo]benzonitrilo

[0238]



Paso 1. 1-(3-bromo-5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona

[0239] 1-(5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona (por ejemplo, del Ejemplo 13, paso 1) (20,0 g, 101 mmol, 1,00 eq) y un ácido sulfúrico acuoso al 50% (120 ml) se añadieron al matraz. La mezcla resultante se calentó a 60°C en un baño de agua con agitación. Se añadió *N*-bromosuccinimida (21,52 g, 120,9 mmol, 1,20 eq) en tres porciones [7,0 g + 7,0 g + 7,52 g] en intervalos de 8 minutos. Después de que la mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 3 horas, la reacción se completó. La mezcla de reacción se diluyó con agua (160 ml) y diclorometano (DCM) (300 ml), y la mezcla se agitó durante 0,5 horas. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 1 N HCl (100 ml x 2), agua (100 ml), salmuera (60 ml) y se concentraron bajo reducida presión para proporcionar el producto bruto (29,1 g) como un sólido amarillento. El producto bruto se disolvió en HOAc (100 ml) y luego se diluyó con agua (200 ml) con agitación. La mezcla resultante se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente y el producto se recogió por filtración y se secó para dar 1-(3-bromo-5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona (21,8 g, 80,9%) como un sólido amarillento. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 13,18 (s, 1 H, -OH), 7,78 (d, *J* = 7,78 Hz, 1 H), 2,63 (s, 3 H).

Paso 2. 4-acetilo-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo

[0240] 1-(3-bromo-5-cloro-4-fluoro-2-hidroxifenilo)etanona (2,0 g, 7,5 mmol) se combinó con cianuro de potasio (0,58 g, 9,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (16 ml, 210 mmol) y calentar a 85°C en un baño de aceite. Después de calentar durante 18 horas, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadieron yodoetano (0,90 ml, 11 mmol) y carbonato de potasio (2,1 g, 15 mmol). La reacción se calentó a 65°C y se controló por LC/MS. Después de calentar durante 3 horas, la reacción se completó y se dejó enfriar a temperatura ambiente, luego se recogió en acetato de

etilo y se lavó con agua, salmuera, y se secó sobre sulfato de magnesio. La solución resultante se concentró para dar el producto bruto como un aceite oscuro. El producto se purificó por cromatografía en columna flash sobre gel de sílice eluyendo con gradiente de hexano: acetato de etilo para dar 4-acetilo-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (1,15 g, 50%) como un residuo sólido, LCMS calculado para $C_{11}H_9BrClNO_2$ (M+H)⁺: m/z = 301,9, 303,9; encontrado: (sin ionización)

Paso 3. 2-Bromo-6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)benzonitrilo

[0241] Se añadió tetrahidroborato de sodio (38 mg, 0,99 mmol) a una mezcla de 4-acetilo-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (200 mg, 0,7 mmol) en metanol (5 ml, 100 mmol) a 0°C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró y se repartió entre agua y EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar ácido 2-bromo-6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)benzonitrilo en forma de un aceite transparente (0,15 g, 100%), LCMS calculada para $C_{11}H_{11}BrClNO_2$ (M+H)⁺: m/z = 303,9, 305,9; encontrado: 304,0, 305,9.

Paso 4. 2-Bromo-6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxibenzonitrilo

[0242] Cloruro cianúrico (0,11 g, 0,59 mmol) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 40 mmol). Después de agitar durante unos minutos, se añadió una solución de 2-bromo-6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)benzonitrilo (150 mg, 0,49 mmol) en cloruro de metileno (3 ml, 50 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se repartió entre agua y diclorometano. La capa orgánica se lavó con solución sat. de NaHCO₃, agua, salmuera, secada sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía de columna flash, eluyendo un gradiente de EtOAc/Hexano al 0-30% para dar 2-bromo-6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxibenzonitrilo (0,12 g, 75%) como un semisólido, LCMS calculada para $C_{11}H_{10}BrCl_2NO$ (M+H)⁺: m/z = 323,9, 320,9; encontrado: (pobre ionización).

Paso 5. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo

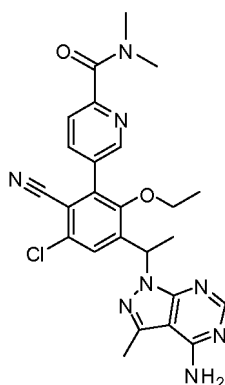
[0243] Se añadió hidruro de sodio (16 mg, 0,41 mmol) a una mezcla de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (33 mg, 0,22 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 40 mmol) y se agitó durante 10 minutos. Se añadió 2-bromo-6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxibenzonitrilo (60 mg, 0,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2ml) y la reacción se agitó a 50°C durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución saturada de NaHCO₃, agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH al 0-10%, para dar 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (0,05 g, 60%) como un sólido, LCMS calculada para $C_{17}H_{16}BrClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 437,0 435,0; encontrado: 436,9, 434,7.

Paso 6. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[5-(metilsulfonil)piridina-3-ilo]benzonitrilo

[0244] A una mezcla de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (20 mg, 0,04 mmol) y 3-(metilsulfonil)-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina (19 mg, 0,069 mmol) en acetonitrilo (2ml, 40 mmol) se añadió carbonato de sodio (10 mg, 0,09 mmol) en agua (0,5 ml, 30 mmol). La reacción se desgasificó con nitrógeno burbujeante. El complejo [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) con diclorometano (1:1) (2mg, 0,002 mmol) se añadió y se desgasificó con más N₂. La reacción se calentó a 100°C durante 2 horas. El producto bruto se purificó en LC-MS preparativa (acetonitrilo, agua, TFA) para dar el producto deseado (0,004 g, 20%) como un sólido amorfo blanco. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{23}H_{22}ClN_7O_3S$ (M+H)⁺: m/z = 512,1; encontrado: 512,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,20 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 9,12 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H) 8,61 (t, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 6,36 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,54 (dt, *J* = 14,0, 7,0 Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,36 - 3,30 (m, 1H), 2,58 (s, 3H), 1,81 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,92 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

Ejemplo 44. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo)-*N,N*-dimetilpicolinamida

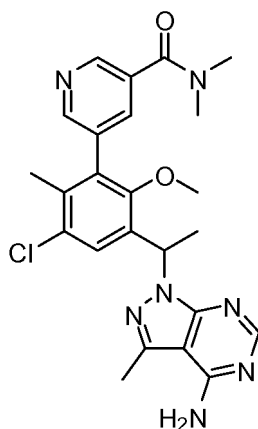
[0245]



[0246] El compuesto del título se preparó de manera análoga a la del Ejemplo 43, Paso 6, pero utilizando *N,N*-dimetilo-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo) picolinamida (Peptech, Cat # BE 1622) para dar el producto bruto que se purificó en LC-MS preparativa (acetonitrilo, agua, TFA) para dar el producto deseado (0,005 g, 22%) como un sólido amorfo blanco. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{25}H_{25}ClN_8O_2$ (M+H)⁺: m/z = 505,1; encontrado: 505,1. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 8,72 (dd, *J* = 2,1, 0,7 Hz, 1H), 8,14 a 8,12 (m, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,71 (dd, *J* = 8,0, 0,7 Hz, 1H), 6,35 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,61 - 3,48 (m, 1H), 3,42 - 3,31 (m, 1H), 3,03 (s, 3H), 2,95 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 1,80 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,92 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 65. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilnicotinamida

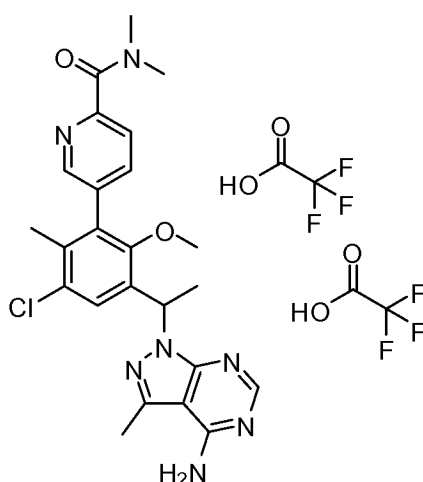
[0247]



[0248] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (25 mg, 0,061 mmol) (quiral puro, primer pico del Ejemplo 20, Paso 2), *N,N*-dimetilo-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)nicotinamida (de PepTech) (25 mg, 0,091 mmol), carbonato de sodio (13 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (9,9 mg, 0,012 mmol) en acetonitrilo (0,8 ml)/agua (0,3 ml) se desgasificó con N_2 y después se agitó a 95°C durante 2 h. La mezcla se filtró y el filtrado se purificó por RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{24}H_{27}ClN_7O_2$ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,64 (1H, s), 8,54 (1H, br s), 8,13 (1H, s), 7,82 (1H, m), 7,53 (1H, s), 7,42 (2H, br s), 6,28 (1H, q, *J* = 6,5 Hz), 3,22 (3H, s), 2,95 (6H, m), 2,58 (3H, s), 2,04 (3H, s), 1,77 (3H, d, *J* = 6,5 Hz) ppm.

Ejemplo 66. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida bis(trifluoroacetato)

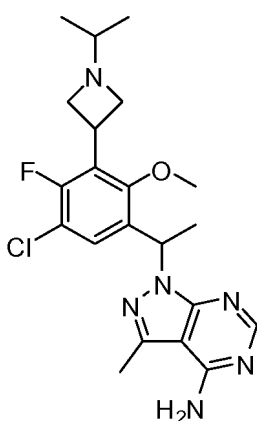
[0249]



5
10
15
20 **[0250]** Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-
amina (25 mg, 0,061 mmol) (quiral puro, primer pico del Ejemplo 20, Paso 2), *N,N*-dimetilo-5-(4, 4,5,5-tetrametilo-1,3,2-
dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carboxamida (25 mg, 0,091 mmol), carbonato de sodio (13 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-
25 bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (9,9 mg, 0,012 mmol) en acetonitrilo
(0,8 ml)/agua (0,3 ml) se desgasificó con N₂ y después se agitó a 95°C por 2 horas. Después de enfriar a temperatura
ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente
de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el
deseado producto como sal bisTFA. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para
30 C₂₄H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8,78 (2H, br s), 8,48 (1H, m),
8,36 (1H, s), 7,86 (1H, br s), 7,65 (1H, br s), 7,58 (1H, s), 6,33 (1H, q, *J* = 7,0 Hz), 3,19 (3H, s), 3,03 (3H, s), 2,97 (3H,
s), 2,62 (3H, s), 2,06 (3H, s), 1,81 (3H, d, *J* = 7,0 Hz) ppm.

**Ejemplo 67. 1-[1-[5-Cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-
d]pirimidina-4-amina**

35 **[0251]**



55 *Paso 1.* 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-
diclorhidrato de amina

60 **[0252]** *terc-Butilo* 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-fluoro-2-
metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de etilo (1,6 g, 3,2 mmol, del Ejemplo 13, Paso 7) se trató con cloruro de hidrógeno
4,0 M en dioxano (8,15 ml, 32,6 mmol) en cloruro de metileno (17 ml) a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla
se concentró a sequedad para dar el producto deseado. LCMS calculada para C₁₈H₂₁ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 391,1;
Encontrado: 391,1.

65 *Paso 2.* 1-[1-[5-Cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-
4-amina

[0253] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-

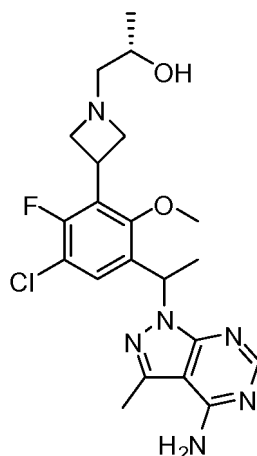
d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (0,90 g, 1,9 mmol, Ejemplo 67, paso 1), acetona (1,0 mL, 14 mmol) y trietilamina (2,5 mL, 18 mmol) en cloruro de metileno (20 mL) se añadió resina de triacetoxiborohidruro de sodio (2,5 g, 5,8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se filtró, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar el producto bruto (870 mg, 100%). LCMS calculada para C₂₁H₂₇ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 433,2; Encontrado: 433,1

Paso 3. Enantiómero individual de 1-{1-[5-cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenil]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0254] Enantiómeros de 1-{1-[5-cloro-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenil]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (870 mg, 2,0 mmol) se separaron en una columna Phenomenex Lux Cellulose-2, eluyendo con etanol al 10% en hexanos, a un caudal de 18 ml/min, y carga de columna de ~ 8 mg/inyección para separar dos enantiómeros. Primer tiempo de retención máximo 10,9 min; segundo tiempo de retención Pico 13,6 min. Las fracciones del primer pico (110 mg, 13%) se concentraron y se purificaron utilizando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₁H₂₇ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 433,2; Encontrado: 433,1

Ejemplo 68. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-fluoro-2-metoxifenil}acetidina-1-ilo)propano-2-ol

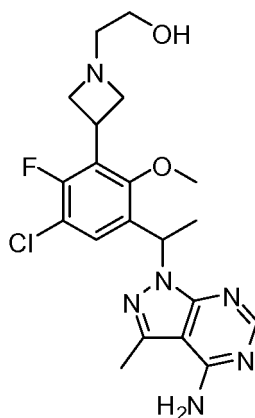
[0255]



[0256] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenil)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (15 mg, 0,032 mmol, del Ejemplo 67, Paso 1) y trietilamina (18 µL, 0,13 mmol) en etanol (0,53 mL) se añadió (S)-(-)-metiloxirano (6,8 µL, 0,097 mmol). La mezcla resultante se calentó a 90°C durante 3 h, luego se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. Los enantiómeros se separaron en una columna Phenomenex Lux Cellulose C-4 (5 µm, 21,2 x 250 mm), eluyendo con etanol al 20% en hexanos, a una velocidad de flujo de 18 ml/min, para dar dos enantiómeros. Tiempo de retención del primer pico (2,7 mg, 18%) 8,9 min; LCMS calculada para C₂₁H₂₇ClFN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 449,2; Encontrado: 449,1. ¹H RMN (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 8,11 (1H, s), 7,42 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,25 (2H, br s), 6,21 (1H, q, J = 7,5 Hz), 4,28 (1H, d, J = 4,0 Hz), 3,82 (3H, m), 3,62 (3H, s), 3,55 (1H, m), 3,05 (1H, m), 2,97 (1H, m), 2,55 (3H, s), 2,28 (2H, m), 1,70 (2H, d, J = 7,5 Hz), 1,00 (3H, d, J = 6,0 Hz) ppm. Segundo tiempo de retención Pico 10,0 min.

Ejemplo 71. 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-fluoro-2-metoxifenil}acetidina-1-ilo)etanol

[0257]



5

10

15

[0258] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (19 mg, 0,041 mmol, Intermedio racémico del Ejemplo 67, Paso 1) y trietilamina (28 μ L, 0,20 mmol) en metanol (0,1 ml)/acetonitrilo (0,1 ml)/tetrahidrofurano (0,1 ml) se añadió {[*terc-Butilo*(dimetilo)sililo]oxi}acetaldehído (39 μ l, 0,20 mmol), seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (22 mg, 0,10 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se trató con cloruro de hidrógeno 6,0 M en agua (0,07 ml, 0,4 mmol) a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (2,5 mg, 13%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{20}H_{25}ClFNO_2$ (M+H)⁺: m/z = 435,2; Encontrado: 435,1.

20

25

30

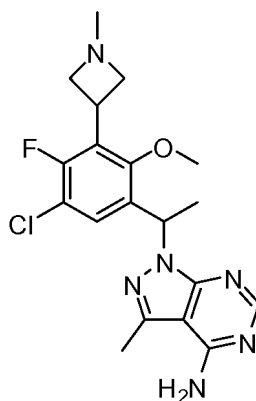
Ejemplo 72. 1-{1-[5-Cloro-4-fluoro-2-metoxi-3-(1-oxetano-3-ilacetidina-3-ilo)fenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0259]

35

40

45



50

55

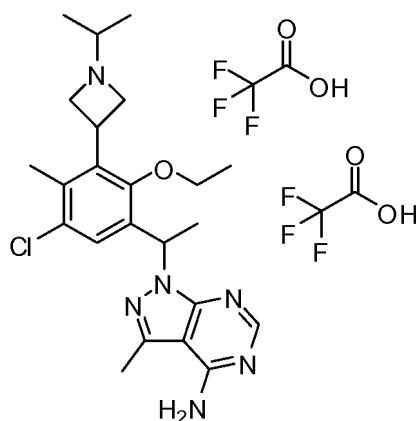
[0260] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-4-fluoro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (19 mg, 0,041 mmol de compuesto racémico del Ejemplo 67, Paso 1) y trietilamina (28 μ L, 0,20 mmol) en metanol (0,1 ml)/acetonitrilo (0,1 ml)/tetrahidrofurano (0,1 ml) se añadió formaldehído al 37% (15 μ L, 0,20 mmol), seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (22 mg, 0,10 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (1,2 mg, 6,3%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{19}H_{23}ClFN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 405,2; Encontrado: 405,1.

60

Ejemplo 94. 1-{1-[5-Cloro-2-etoxi-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-4-metilfenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

[0261]

65



Paso 1. 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de bencilo

[0262] Se añadió cloruro cianúrico (200 mg, 1,1 mmol) a *N,N*-dimetilformamida (0,083 ml, 1,1 mmol) a temperatura ambiente. Después de la formación de un sólido blanco (aproximadamente 10 minutos), se añadió cloruro de metileno (5 ml), seguido de 3-[3-cloro-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de bencilo (310 mg, 0,77 mmol). Después de la adición, la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua y luego se diluyó con diclorometano. Las fases orgánicas se lavaron con solución sat. de NaHCO₃, agua y salmuera, secada sobre MgSO₄, se concentró y se purificó en gel de sílice (eluyendo con 0 a 40% de EtOAc/hexanos) para dar el producto deseado (140 mg, 43%). LCMS calculada para C₂₂H₂₆Cl₂NO₃ (M+H)⁺: m/z = 422,1; Encontrado: 422,0.

[0263] Una mezcla de 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de metilo (0,375 g, 0,888 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,16 g, 1,1 mmol), carbonato de cesio (0,43 g, 1,3 mmol) y yoduro de potasio (15 mg, 0,089 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2,8 mL) se calentó a 140°C durante 1 h. La mezcla se diluyó con éter y se lavó con agua. Las capas orgánicas se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 100% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (0,24 g, 50%). LCMS calculada para C₂₈H₃₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 535,2; Encontrado: 535,0. Los enantiómeros se separaron en una Phenomenex Lux Cellulose columna C-2 (5 µm, 21,2 x 250 mm), eluyendo con etanol al 20% en hexanos, a una velocidad de flujo de 18 mL/min, y carga de columna de ~ 4,5 mg/inyección para separar dos enantiómeros. Primer tiempo de retención máximo: 21,2 min; segundo tiempo de retención pico: 24,6 min.

Paso 2. 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0264] 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de bencilo (170 mg, 0,32 mmol, Intermedio racémico) y 5% de paladio (80 mg) se combinaron en metanol (12 ml), a lo que se añadió cloruro de hidrógeno 0,25 M en agua (3,2 ml, 0,79 mmol). La suspensión se hidrogenó bajo presión de balón de H₂ a temperatura ambiente durante 2 h. La suspensión se filtró. El filtrado se neutralizó con solución sat. de NaHCO₃ y se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron, se concentraron para dar el producto deseado (117 mg, 92%). LCMS calculada para C₂₀H₂₆ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 401,2; Encontrado: 401,1.

Paso 3. 1-[1-[5-Cloro-2-etoxi-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina bis(trifluoroacetato)

[0265] Se añadió acetona (9,3 µl, 0,13 mmol) a 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (10,2 mg, 0,0254 mmol) en metanol (0,1 mL)/tetrahidrofurano (0,1 mL)/acetonitrilo (0,1 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, antes de la adición de triacetoxiborohidruro de sodio (16 mg, 0,076 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y luego se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene 0,05% de TFA, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal TFA (2,3 mg, 22%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₂ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 443,2; Encontrado: 443,1.

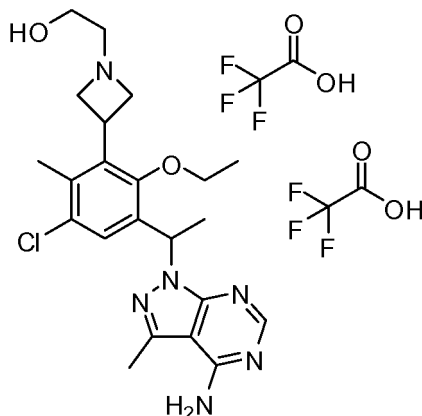
Ejemplo 95. 2-[3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo]acetidina-1-ilo)etanol bis(trifluoroacetato)

[0266]

5

10

15



20

25

[0267] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina (7,9 mg, 0,020 mmol, Intermedio racémico del Ejemplo 94, Paso 2) en tetrahidrofurano (0,09 mL)/acetonitrilo (0,09 ml)/metanol (0,09 ml) se añadió [[*tert*-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]acetaldehído (19 μ l, 0,098 mmol) y la mezcla se agitó durante 10 minutos antes de la adición de triacetoxiborohidruro de sodio (12 mg, 0,059 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, luego se trató con cloruro de hidrógeno 6,0 M en agua (30 μ l, 0,2 mmol) durante 10 minutos. La mezcla se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal TFA (3,2 mg, 40%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{22}H_{30}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 445,2; Encontrado: 445,1.

30

Ejemplo 96. (2*S*)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propano-2-ol bis(trifluoroacetato)

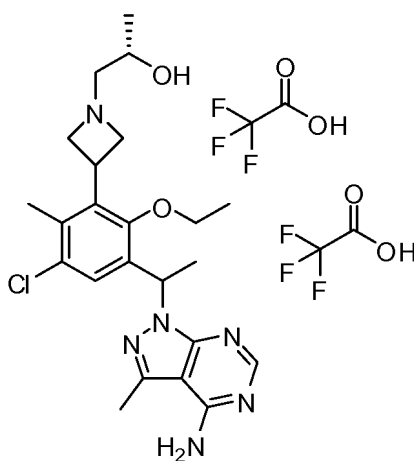
35

[0268]

40

45

50



55

*Paso 1. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de bencilo*

60

[0269] Los enantiómeros del Ejemplo 94, Paso 1 se separaron en Phenomenex Lux Cellulose Columna C-2 (5 μ M, 21,2 x 250 mm), eluyendo con etanol al 20% en hexanos, a un caudal de 18 ml/min, y carga de columna de ~ 4,5 mg/inyección para separar dos enantiómeros. Primer tiempo de retención máximo: 21,2 min; segundo tiempo de retención pico: 24,6 min.

65

*Paso 2. 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina*

[0270] 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de bencilo (Intermedio quiral del primer pico del paso anterior) se hidrogenó en presencia de paladio al 5% como se describe en el Ejemplo 94, paso 2 para dar el producto quiral deseado. LCMS calculada para $C_{20}H_{26}ClN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 401,2; Encontrado: 401,1.

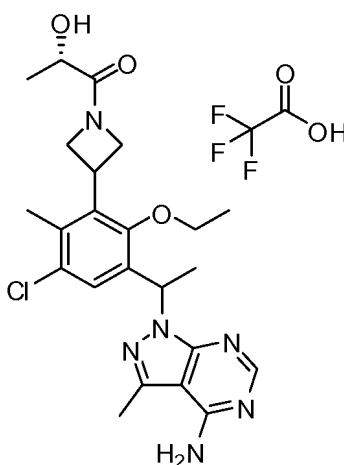
65

Paso 3. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propano-2-ol bis(trifluoroacetato)

[0271] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (10 mg, 0,02 mmol, Intermedio quiral del Paso 2) y trietilamina (9 μ L, 0,07 mmol) en alcohol isopropílico (0,05 mL) se añadió (S)-(-)-metiloxirano (4,5 μ L, 0,064 mmol). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante la noche, se enfrió y se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a un caudal de 30 ml/min) para dar el producto deseado. como sal TFA (3,4 mg, 34%). El producto se aisló como un diastereómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₂ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 459,2; Encontrado: 459,1

Ejemplo 99. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-1-oxopropano-2-ol trifluoroacetato

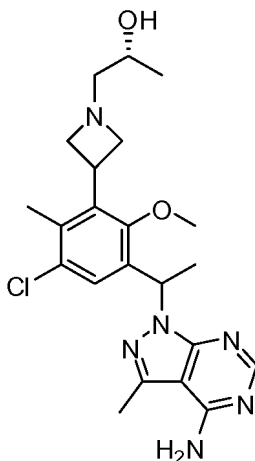
[0272]



[0273] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (9,8 mg, 0,024 mmol, Intermedio racémico del Ejemplo 94, Paso 2), *N,N,N',N'*-tetrametilo-*O*-(7-azabenzotriazol-1-ilo)hexafluorofosfato de uronio (14 mg, 0,037 mmol) y trietilamina (10 μ L, 0,073 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,15 ml) se añadió ácido (2S)-2-hidroxiopropanoico al 85% en agua (3,2 μ L, 0,037 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal de ácido trifluoroacético (TFA) (2,9 mg, 29%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₃H₃₀ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 473,2; Encontrado: 473,1.

Ejemplo 102. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propano-2-ol

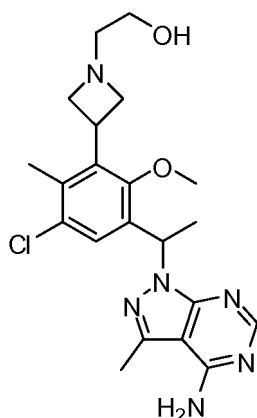
[0274]



[0275] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (21 mg, 0,046 mmol) (Ejemplo 1, Paso 7, Intermedio quiral del Pico 1) y se añadió trietilamina (20 μ l, 0,1 mmol) en alcohol isopropílico (0,10 ml) (*S*)-(-)-metiloxirano (3,2 μ l), 0,046 mmol). La mezcla resultante se agitó a 90°C. Después de 90 minutos, se añadió (*S*)-(-)-metiloxirano (6,4 μ l) adicional y se agitó a 90°C durante la noche. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con metanol y se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a un caudal de 30 ml/min) para dar 6 mg (30%) del producto. El producto se aisló como un diastereómero único. LCMS calculada para C₂₂H₃₀ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 445,2; Encontrado: 445,2.

Ejemplo 104. 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)etanol

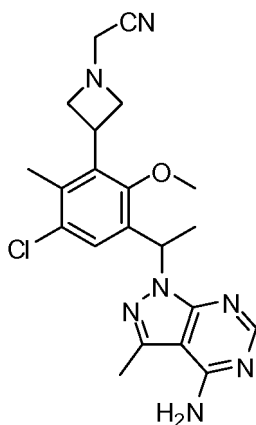
[0276]



[0277] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (20 mg, 0,04 mmol) (Ejemplo 1, paso 7, Intermedio quiral del Pico 1), [[*tert*-butilo (dimetilo)sililo]oxi]acetaldehído (8,3 mg, 0,048 mmol) y trietilamina (19 μ l, 0,14 mmol) en cloruro de metileno (0,3 ml) se añadió resina de triacetoxiborohidruro de sodio (38 mg, 0,087 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se concentró. El producto bruto se disolvió en tetrahidrofurano (1 ml) y se enfrió a 0°C. 1,0 M Tetra-*n*-fluoruro de butilamonio en THF (0,44 ml, 0,44 mmol) se añadió y se calentó a temperatura ambiente. Después de 3 h, los disolventes se evaporaron. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar 8,1 mg (40%) del producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₁H₂₈ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 431,2; Encontrado: 431,3.

Ejemplo 105. (3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)acetonitrilo

[0278]

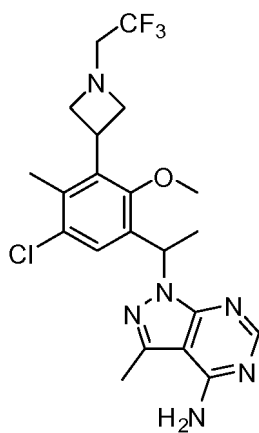


[0279] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (16 mg, 0,035 mmol, Intermedio quiral del Pico 1 de Ejemplo 1, Paso 7) y se

añadió bromoacetnitrilo (2,7 ml, 0,038 mmol) de trietilamina (14 ml, 0,10 mmol) en acetonitrilo (0,7 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. La mezcla se diluyó con acetonitrilo y se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como la sal TFA. Las fracciones puras se evaporaron parcialmente y luego se basificaron mediante la adición de 1N NaOH. La mezcla acuosa se extrajo con diclorometano (2x). Los extractos se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El sólido se secó al vacío para dar 6,9 mg (46%) del producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₁H₂₅ClN₇O (M+H)⁺: m/z = 426,2; Encontrado: 426,0.

Ejemplo 108. 1-(1-{5-Cloro-2-metoxi-4-metilo-3-[1-(2,2,2-trifluoroetilo)acetidina-3-ilo]fenilo}etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

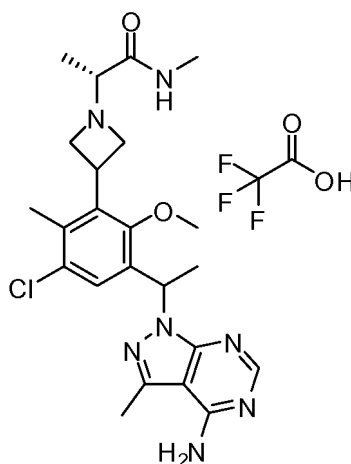
[0280]



[0281] Una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (15 mg, 0,024 mmol, Intermedio quiral del primer pico del Ejemplo 1, Paso 7), 2,2,2-trifluorometanosulfonato de trifluoroetilo (6,8 mg, 0,029 mmol) y trietilamina (12 µl, 0,085 mmol) en cloruro de metileno (0,3 ml) se agitó durante un fin de semana a temperatura ambiente. Los solventes se evaporaron y el crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 mL/min) para dar 4,5 mg (39%) del producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₁H₂₅ClF₃N₆O (M+H)⁺: m/z = 469,2; Encontrado: 469,1.

Ejemplo 110. (2R)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-N-metilpropanamida trifluoroacetato

[0282]

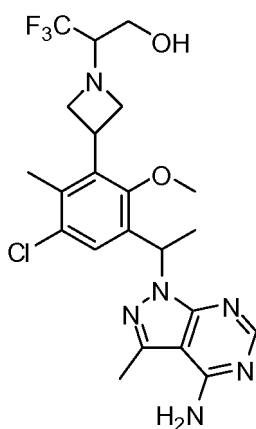


[0283] Una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (26 mg, 0,067 mmol, compuesto intermedio del Pico 1 del Ejemplo 1, Paso 7), ácido (2R)-2-bromopropanoico (7,3 µL, 0,081 mmol) y trietilamina (19 µL, 0,13 mmol) en acetonitrilo (0,8 mL) se agitó durante la

noche a temperatura ambiente. La reacción no se completó, por lo que se calentó a 50°C. Después de 4 h, los disolventes se evaporaron. Al residuo bruto se le añadió cloruro de metilamonio (4,5 mg, 0,067 mmol), *N,N*-dimetilformamida (0,2 ml), trietilamina (19 µL, 0,13 mmol) y benzotriazol-1-iloxitrina(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (45 mg), 0,10 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añadió a un vial que contenía *sat.* NaHCO₃ y extraído con EtOAc (2x). Los orgánicos se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía 0,05% de TFA, a una velocidad de flujo de 30 mL/min) para dar 1,4 mg (3,6%) del producto deseado como el TFA sal. El producto se aisló como un diastereómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₁ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 472,2; Encontrado: 472,2.

Ejemplo 113. 2-(3-(3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)acetidina-1-ilo)-3,3,3-trifluoropropano-1-ol

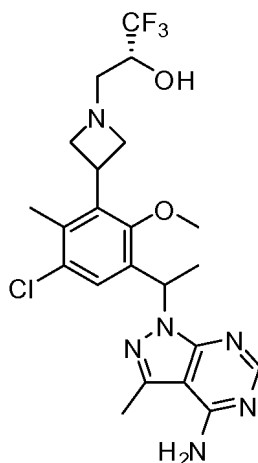
[0284]



[0285] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (20 mg, 0,04 mmol, Intermedio de chrial del Pico 1 del Ejemplo 1, Paso 7) y se añadió trietilamina (19 µL, 0,13 mmol) en acetonitrilo (0,6 ml) 2-bromo-3,3,3-trifluoropropano-1-ol (de Synquest Labs, 9,2 mg, 0,048 mmol). Se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,3 ml), lo que creó una solución transparente que se agitó a 70°C durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar 6,6 mg (30%) del producto deseado. El producto se aisló como una mezcla de diastereómeros. LCMS calculada para C₂₂H₂₇ClF₃N₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 499,2; Encontrado: 499,1.

Ejemplo 115. (2*R*)-3-(3-(3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)acetidina-1-ilo)-1,1,1-trifluoropropano-2-ol

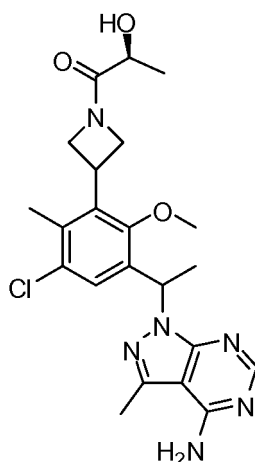
[0286]



[0287] Una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (20 mg, 0,044 mmol, intermedio quiral del Pico 1 de Ejemplo 1, Paso 7), (2*R*)-2-(trifluorometilo)oxirano (9,4 μ L, 0,11 mmol) y trietilamina (18 μ L, 0,13 mmol) en etanol (0,3 ml) se calentó en un microondas a 120°C durante 25 min. La mezcla se diluyó con MeOH y se purificó por RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar 6,2 mg (28%) del producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{22}H_{27}ClF_3N_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 499,2; Encontrado: 499,1.

Ejemplo 118. (2*S*)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-1-oxopropano-2-ol

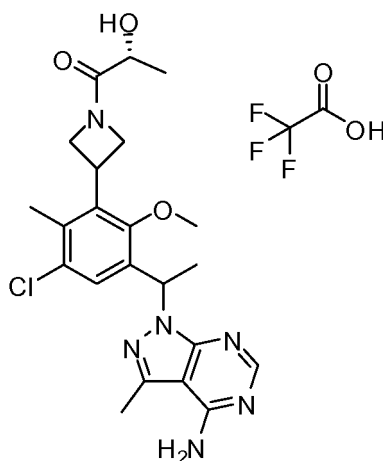
[0288]



[0289] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (15 mg, 0,033 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 1, Paso 7, Pico 1), mezcla de ácido (2*S*)-2-hidroxi-propanoico (4,3 μ L, 0,049 mmol) (ácido L-láctico, 85% ac.) y trietilamina (14 μ L, 0,098 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,2 ml) se añadió *N,N,N',N'*-tetrametilo-*O*-(7-azabenzotriazol-1-ilo)hexafluorofosfato de uronio (19 mg, 0,049 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con MeOH y se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar 3,0 mg (20%) del producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{22}H_{28}ClN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 459,2; Encontrado: 459,2.

Ejemplo 121. (2*R*)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-1-oxopropano-2-ol trifluoroacetato

[0290]

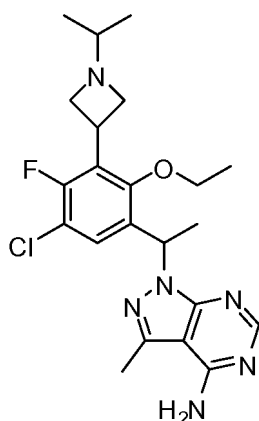


[0291] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 118 (partiendo del material

quiral del Ejemplo 1, Paso 7, Pico 1), con ácido (R)-2-hidroxi-propanoico en lugar de ácido (2S)-2-hidroxi-propanoico (4,3 μ L, 0,049 mmol) y benzotriazol-1-iloxitrina(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio en lugar de *N,N,N',N'*-tetrametilo-*O*-(7-azabenzotriazol-1-ilo)hexafluorofosfato de uronio. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como la sal TFA. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{22}H_{28}ClN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 459,2; Encontrado: 459,2.

Ejemplo 139. Enantiómeros de 1-{1-[5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)fenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0292]



Paso 1 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona

[0293] Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13 Paso 3, utilizando 1-(5-cloro-4-fluoro-2-hidroxi-3-yodofenilo)etanona y yodoetano como materiales de partida. LCMS calculada para $C_{10}H_{10}ClFIO_2$ (M+H)⁺: m/z = 342,9; Encontrado: 342,9.

Paso 2. 3-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0294] Un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética y un tabique de caucho se cargó con cloruro de litio (3,9 g, 91 mmol). El matraz se calentó a 140°C durante 10 minutos a alto vacío y se rellenó con nitrógeno después de enfriar a temperatura ambiente. Se añadió zinc (6,0 g, 91 mmol) y el matraz se calentó a 140°C durante 10 minutos a alto vacío y se rellenó con nitrógeno después de enfriar a temperatura ambiente. Se añadieron tetrahidrofurano (THF) (38 ml) y 1,2-dibromoetano (233 μ l, 2,70 mmol) mediante una jeringa. La mezcla se calentó a 60°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron clorotrimetilsilano (68 μ l, 0,54 mmol) y yodo (69 mg, 0,27 mmol) en THF (1 ml) y la mezcla resultante se agitó a 60°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Luego se añadió una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (12,17 g, 42,99 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se agitó a 40°C durante 1 hora y a temperatura ambiente durante 1 hora. Otro matraz cargado con 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona (13,0 g, 38,0 mmol), acetato de paladio (170 mg, 0,76 mmol), 2'-(diclohexilfosfino)-*N,N,N',N'*-tetrametilbifenilo-2,6-diamina (660 mg, 1,5 mmol) y tolueno (35 ml) se evacuaron a alto vacío y se rellenaron con nitrógeno. La mezcla se enfrió a 0°C y el reactivo de zinc preparado anteriormente se añadió lentamente mediante una jeringa. Después de la adición, la reacción se calentó a 50°C durante la noche. La solución de reacción se repartió entre EtOAc y solución sat. de NH_4Cl . Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (2x). Los orgánicos combinados se lavaron con agua, salmuera, luego se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron. La mezcla cruda se purificó en una columna de gel de sílice para dar el producto deseado como un aceite naranja (6,3 g, 45%). LCMS calculada para $C_{18}H_{23}ClFNO_4Na$ (M+Na)⁺: m/z = 394,1; Encontrado: 394,1.

Paso 3. 3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)fenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0295] Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13 Paso 5, usando 3-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo y tetrahidroborato de sodio como materiales de partida. LCMS calculada para $C_{18}H_{25}ClFNO_4Na$ (M+Na)⁺: m/z = 396,1; Encontrado: 396,1.

Paso 4. 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0296] Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13, Paso 6, utilizando 3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)fenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo (racémico) y cloruro cianúrico como

materiales de partida.

Paso 5. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

[0297] A una mezcla de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (1,10 g, 7,37 mmol), carbonato de cesio (3,2 g, 10 mmol) y yoduro de potasio (111 mg, 0,670 mmol) en DMF (20 mL) se añadió *terc*-butilo 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]acetidina-1-carboxilato (2,63 g, 6,70 mmol) y la mezcla se agitó a 90°C durante 3 h. El disolvente se eliminó a vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 100%) para dar el producto deseado como una espuma (2,15 g, 63%). LCMS calculada para C₂₄H₃₁ClFN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 505,2; Encontrado: 505,2.

Paso 6. 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina

[0298] A una solución de 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (275 mg, 0,544 mmol) en diclorometano (2,4 ml) se añadió cloruro de hidrógeno 4,0 M en dioxano (1,1 ml, 4,4 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar el producto deseado como un sólido blanco (250 mg, 96%). LCMS calculada para C₁₉H₂₃ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 405,2; Encontrado: 405,1.

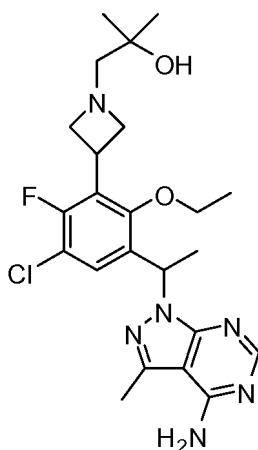
Paso 7. 1-[1-[5-Cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-(1-isopropilacetidina-3-ilo)fenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0299] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (49 mg, 0,10 mmol), acetona (8,28 µL, 0,113 mmol) y trietilamina (44,3 µL, 0,318 mmol) en diclorometano (0,67 ml) se añadió resina de triacetoxiborohidruro de sodio (89 mg, 0,20 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se concentró y luego se purificó por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía TFA al 0,05%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto racémico. LCMS: encontrado m/z = 447,2 (M+H)⁺. La mezcla racémica se separó por HPLC quirral (columna IA, eluyendo con etanol al 5%/hexanos al 95%, a un caudal de 18 ml/min) para dar dos picos (isómero 1: 9,5 mg, 21%; isómero 2: 9,2 mg, 20%).

[0300] Isómero 1 (primero en eluir, tiempo de retención: 4,4 min): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,10 (s, 1H), 7,45 (d, 1H), 6,21 (m, 1H), 3,70 (m, 5H), 2,91 (m, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,17 (m, 1H), 1,66 (d, 3H), 1,31 (t, 3H), 0,81 (m, 6H) ppm; LCMS calculada para C₂₂H₂₉ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 447,2; Encontrado: 447,2. Isómero 2 (segundo en eluir, tiempo de retención: 19,5 min): LCMS calculada para C₂₂H₂₉ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 447,2; Encontrado: 447,2.

Ejemplo 140. 1-(3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo]acetidina-1-ilo)-2-metilpropano-2-ol

[0301]

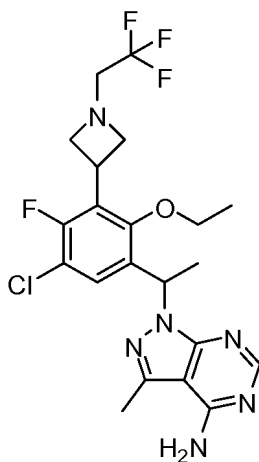


[0302] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (20 mg, 0,042 mmol, Intermedio racémico del Ejemplo 139, Paso 6) y trietilamina

(18 μ L, 0,12 mmol) en etanol (1 ml) se añadió oxirano, 2,2-dimetilo-(6,98 μ L, 0,0837 mmol). La mezcla resultante se calentó a 120°C en un reactor de microondas durante 45 minutos. La reacción se diluyó con metanol y se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como un sólido blanco (3,4 mg, 17%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{23}H_{31}ClFN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 477,2; Encontrado: 477,3.

Ejemplo 141. 1-(1-{5-Cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-[1-(2,2,2-trifluoroetilo)acetidina-3-ilo]fenilo}etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

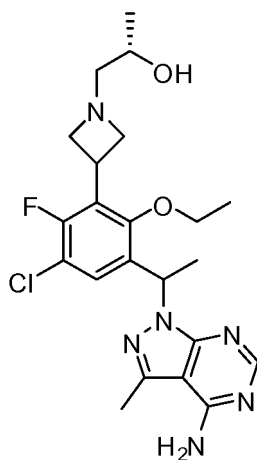
[0303]



[0304] a una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (19 mg, 0,040 mmol, intermedio racémico del Ejemplo 139, Paso 6) y trietilamina (20 ml, 0,14 mmol) en diclorometano (0,5 ml) se añadió 2,2,2-trifluoroetilo trifluorometanosulfonato (11 mg, 0,048 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y la mezcla cruda se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (3,8 mg, 19%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{24}ClF_4N_6O$ (M+H)⁺: m/z = 487,2; Encontrado: 487,1.

Ejemplo 149. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}acetidina-1-ilo)propano-2-ol

[0305]



Paso 1. Enantiómeros de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0306] La mezcla racémica se separó por HPLC quiral (columna IA, eluyendo con etanol al 5%/hexanos al 95%, velocidad de flujo 18 ml/min) para dar dos picos; Isómero 1 (primero en eluir): Tiempo de retención: 16,8 min; LCMS

calculada para $C_{24}H_{31}ClFN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 505,2; Encontrado: 505,2; Isómero 2 (segundo a eluir): Tiempo de retención: 19,5 min; LCMS calculada para $C_{24}H_{31}ClFN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 505,2; Encontrado: 505,2.

Paso 2 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-dihidrocloruro de amina

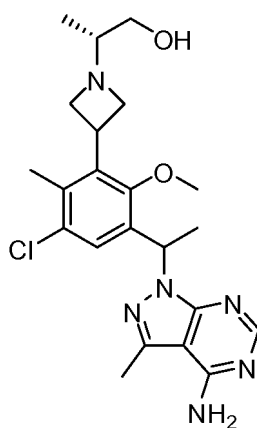
[0307] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 139, paso 6 con 3-{3-[(1S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (primer pico de separación quiral) como material de partida. LCMS calculada para $C_{19}H_{23}ClFN_6O$ (M+H)⁺: m/z = 405,2; Encontrado: 405,1.

Paso 3. (2S)-1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}acetidina-1-ilo)propano-2-ol

[0308] A una mezcla de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (46 mg, 0,11 mmol) (del isómero 1) y trietilamina (50 μ L, 0,4 mmol) en alcohol de isopropilo (0,3 ml) se añadió (*S*)-(-)-metiloxirano (16 μ l, 0,23 mmol). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 3 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con acetonitrilo y se purificó por RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a un caudal de 30 ml/min) para dar el producto deseado (12 mg, 23%). El producto se aisló como un diastereómero único. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,05 (s, 1H), 7,38 (d, 1H), 6,15 (m, 1H), 4,26 (d, 1H), 3,76-3,60 (m, 6H), 2,99 (m, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,22 (m, 2H), 1,62 (d, 3H), 1,25 (t, 3H), 0,93 (d, 3 H) ppm; LCMS calculada para $C_{22}H_{29}ClFN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 463,2; Encontrado: 463,2.

Ejemplo 156. (2R)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propano-1-ol

[0309]



Paso 1. (2S)-2-bromopropanoato de metilo

[0310] DMF (28 μ L, 0,36 mmol) se añadió a una mezcla de ácido (2S)-2-bromopropanoico (0,552 g, 3,61 mmol) y cloruro de oxalilo (0,61 ml, 7,2 mmol) en diclorometano (4,6 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó *a vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano y se trató con metanol (1,5 ml, 36 mmol) y piridina (0,44 ml, 5,4 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se inactivó con solución saturada de bicarbonato sódico y se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para dar el producto deseado (0,51 g, 85%).

Paso 2. (2R)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propanoato de metilo

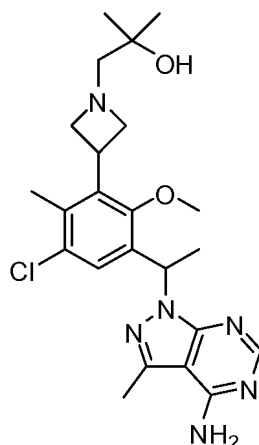
[0311] A una solución de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina hidrocloreuro (20,1 mg, 0,0475 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 1, Paso 7) en acetonitrilo (1 ml) se añadió trietilamina (23 μ L, 0,17 mmol) y (2S)-2-bromopropanoato de metilo (9,5 mg, 0,057 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El disolvente se eliminó para dar el producto deseado (6,2 mg, 28%). LCMS calculada para $C_{23}H_{30}ClN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 473,2; Encontrado: 473,3

Paso 3. (2R)-2-(3-{3-[(1S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propano-1-ol

[0312] Una solución de (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)propanoato de metilo (6,2 mg, 0,013 mmol) en diclorometano (0,5 ml) se trató con hidruro de diisobutilaluminio 1,0 M en tolueno (0,1 ml, 0,1 mmol) a 0°C durante 3 h. La reacción se interrumpió con metanol y se purificó con RP-HPLC preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (0,8 mg., 14%) El producto se aisló en forma de un solo diastereómero. LCMS calculada para C₂₂H₃₀ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 445,2; encontrado: 445,1

Ejemplo 158. 1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-2-metilpropano-2-ol

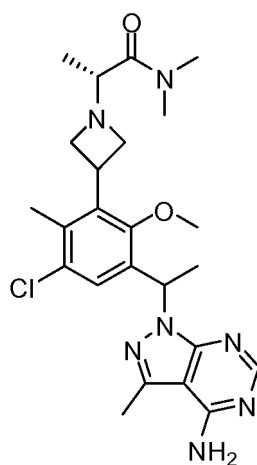
[0313]



[0314] Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos al Ejemplo 140 con 1-[1-(3-acetidina-3-clorhidrato de ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina (Intermedio quiral del Ejemplo 1, Paso 7) y oxirano, 2,2-dimetilo-como materiales de partida. El producto se aisló como enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₂ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 459,2; Encontrado: 459,1 ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,04 (s, 1H), 7,23 (brs, 2H), 7,16 (s, 1H), 6,14 (m, 1H), 3,96 (s, 1H), 3,85 (m, 3H), 3,45 (s, 3H), 2,94 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,14 (s, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,63 (d, 3H), 0,98 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 159. (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-*N,N*-dimetilpropanamida

[0315]



Paso 1. (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-Amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)ácido propanoico

[0316] A una solución de (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-

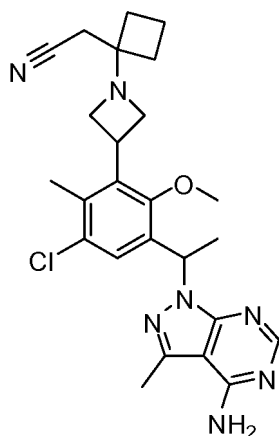
metilfenilo}acetidina-1-ilo)propanoato de metilo (Intermedio quiral del ejemplo 156 Paso 2) (13 mg, 0,027 mmol) en acetonitrilo (0,6 mL) y se añadió agua (0,2 ml) hidróxido de litio (2,4 mg, 0,10 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y solución de 1 M HCl. La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar el producto deseado (10,2 mg, 83%). LCMS calculada para C₂₂H₂₈ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 459,2; Encontrado: 459,1.

Paso 2. (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)-*N,N*-dimetilpropanamida

[0317] A una solución de (2*R*)-2-(3-{3-[1-(4-amino-3-ácido metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)ácido propanoico (4 mg, 0,009 mmol) y se añadió benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)hezo fluorofosfato de fosfonio (4 mg, 0,009 mmol) en DMF (0,3 ml) a temperatura ambiente, trietilamina (4 µl, 0,03 mmol) y clorhidrato de dimetilamina (0,9 mg, 0,01 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, luego se diluyó con metanol y se purificó mediante RP-HPLC preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (2,7 mg, 63%). El producto se aisló como un diastereómero único. LCMS calculada para C₂₄H₃₃ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 486,2; Encontrado: 486,1. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,18 (m, 1H), 3,78 (m, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,01 (s, 3H), 3,0-2,9 (m, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,67 (d, 3H), 0,98 (d, 3 H) ppm.

Ejemplo 161. [1-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}acetidina-1-ilo)ciclobutilo]acetitrilo

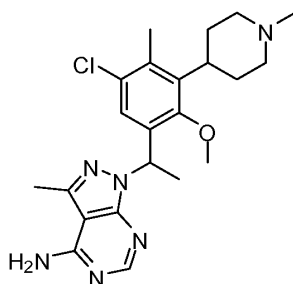
[0318]



[0319] A una solución de 1-[(1-(3-acetidina-3-ilo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (10 mg, 0,022 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 1, Paso 7) en acetonitrilo (0,1 mL)ciclobutilidenoacetitrilo (4,1 mg, 0,044 mmol), seguido de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (13 µl, 0,087 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetonitrilo y purificado por RP-HPLC preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (4,3 mg, 41%). El producto se aisló como un solo enantiómero LCMS calculada para C₂₅H₃₁ClN₇O (M+H)⁺: m/z = 480,2; encontrado: 480,0.

Ejemplo 163. 1-{1-[5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(1-metilpiperidina-4-ilo)fenilo]etilo}-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina

[0320]



Paso 1. 4-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

5 **[0321]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 139 Paso 2 con 1-(5-cloro-3-yodo-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona y 4-yodopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo como materiales de partida. LCMS calculada para C₂₀H₂₈ClNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 404,1; Encontrado: 404,1.

Paso 2. 4-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

10 **[0322]** Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13, paso 5, utilizando 4-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo y tetrahidroborato de sodio como materiales de partida. LCMS calculada para C₂₀H₃₀ClNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 406,1; Encontrado: 406,1.

Paso 3. 4-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

15 **[0323]** Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13, Paso 6, utilizando 4-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (racémico) y cloruro cianúrico como materiales de partida. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,44 (s, 1H), 5,46 (m, 1H), 4,23 (brs, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,29 (brs, 1H), 2,78 (bs, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,27-2,09 (m, 2H), 1,78 (d, 3H), 1,63 (m, 2H), 1,43 (s, 9H) ppm.

20 **Paso 4. 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piperidina-1-carboxilato de terc-butilo**

25 **[0324]** Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 139, paso 5, usando 4-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo y 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina como materiales de partida. LCMS calculada para C₂₆H₃₆ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 515,3; Encontrado: 515,2.

Paso 5. 1-[1-(5-Cloro-2-metoxi-4-metilo-3-piperidina-4-ilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina

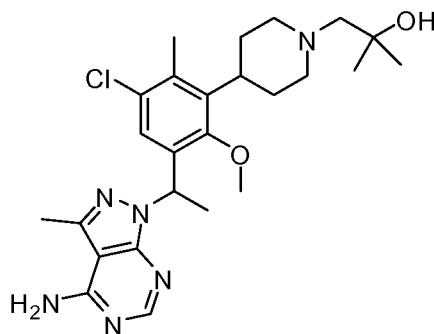
30 **[0325]** Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 139 Paso 6, utilizando de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo como material de partida. LCMS calculada para C₂₁H₂₈ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 415,2; Encontrado: 415,2.

35 **Paso 6. 1-[1-[5-Cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(1-metilpiperidina-4-ilo)fenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina**

40 **[0326]** Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 139, paso 7, usando 1-[1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-piperidina-4-ilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina y formaldehído como materiales de partida. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₂H₃₀ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 429,2; Encontrado: 429,1.

Ejemplo 164. 1-(4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piperidina-1-ilo)-2-metilpropano-2-ol

45 **[0327]**

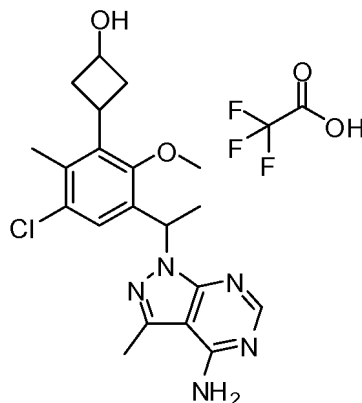


60 **[0328]** Este compuesto se preparó usando procedimientos análogos a los del Ejemplo 140 con 1-[1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-piperidina-4-ilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-diclorhidrato de amina (Intermedio racémico del Ejemplo 163, Paso 5) y oxirano, 2,2-dimetilo- como materiales de partida. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₅H₃₆ClN₆O₂ (M+H)⁺: m/z = 487,3; Encontrado: 487,3. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,05 (s, 1H), 7,24 (bs, 2H), 7,22 (s, 1H), 6,16 (m, 1H), 4,01 (bs, 1H), 3,67 (s, 3H), 2,97 (m, 3H), 2,49 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,15-2,04 (m, 6H), 1,63 (d, 3H), 1,40 (m, 2H), 1,03 (s, 6H) ppm.

65

Ejemplo 166. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}trifluoroacetato de ciclobutanol

[0329]



Paso 1. 1-(5-Cloro-2-metoxi-4-metilo-3-vinilfenilo)etanona

[0330] Una mezcla de 1-(5-cloro-3-yodo-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (1,0 g, 3,2 mmol, del Ejemplo 1, Paso 2), 4,4,5,5-tetrametilo-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (0,66 mL, 3,9 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo con diclorometano (1:1) (0,26 g, 0,32 mmol) y carbonato de potasio (1,3 g, 9,4 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y agua (5 ml) se desgasificó con N₂ y se calentó a 80°C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con agua y acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se concentró y se purificó en una columna de gel de sílice (eluyendo con 0 a 10% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (0,60 g, 82%). LCMS calculada para C₁₂H₁₄ClO₂ (M+H)⁺: m/z = 225,1; Encontrado: 225,1

Paso 2. 3-(3-Acetil-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)ciclobutanona

[0331] A una solución de 1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-vinilfenilo)etanona (530 mg, 2,4 mmol) en éter (10 ml) se añadió pareja de zinc-cobre (1,8 g, 14 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 40°C y se añadió lentamente una solución de cloruro de tricloroacetilo (1,4 ml, 13 mmol) y cloruro de fosforilo (1,2 ml, 13 mmol) en 1,2-dimetoxietano (3 ml) durante 2 h. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche. La reacción se inactivó con solución saturada de NaHCO₃ y se diluyó con éter. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo y el zinc (0,31 g, 4,7 mmol) en ácido acético (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y luego se calentó a reflujo durante una noche. Se añadió otra porción de zinc y reflujo durante otras 4 h. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con éter. La fase orgánica se lavó sucesivamente con una solución saturada de NaHCO₃, agua y salmuera, después se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El material bruto se purificó con cromatografía flash (eluyendo con 0 a 30% de acetato de etilo en hexanos) para dar el producto deseado (0,17 g, 27%). LCMS calculada para C₁₄H₁₆ClO₃ (M+H)⁺: m/z = 267,1; Encontrado: 267,0

Paso 3. 3-[3-Cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]ciclobutanol

[0332] Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13 paso 5, usando 3-(3-acetil-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)ciclobutanona y tetrahidrobórato de sodio como materiales de partida. LCMS calculada para C₁₄H₁₉ClO₃Na (M+Na)⁺: m/z = 293,1; Encontrado: 293,1.

Paso 4. 3-[3-Cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]ciclobutanol

[0333] A una solución de 3-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]ciclobutanol (170 mg, 0,628 mmol) en dimetilo sulfóxido (1 ml) se añadió cloruro cianúrico (64 mg, 0,34 mmol). Después de agitar durante la noche, la mezcla de reacción se diluyó con éter y agua. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo una vez. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El crudo se purificó con columna de gel de sílice para dar el producto deseado (39,6 mg, 22%). LCMS calculada para C₁₄H₁₈ClO₂ (M-C1)⁺: m/z = 253,1; Encontrado: 253,2.

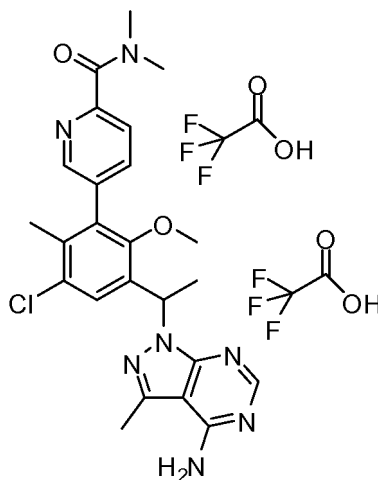
Paso 5. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}trifluoroacetato de ciclobutanol

[0334] Este compuesto se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 139, paso 5, usando 3-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]ciclobutanol y 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina como los materiales de partida. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₀H₂₅ClN₅O₂ (M+H)⁺: m/z = 402,2;

Encontrado: 402,2.

Ejemplo 167. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0335]



Paso 1. 1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona

[0336] A una solución agitada de 1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (5,00 g, 25,2 mmol, de Oakwood) en ácido acético (100 ml) se añadió *N*-bromosuccinimida (4,93 g, 27,7 mmol) y la mezcla calentada resultante a 100°C durante 18 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío, luego se neutralizó con bicarbonato de sodio sat., filtrado por succinimida insoluble. El filtrado se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y luego se concentraron a sequedad a presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 50% de EtOAc en hexanos, para dar los productos deseados (2,66 g, 38%). LCMS calculada para C₁₀H₁₁BrClO₂ (M+H)⁺: m/z = 277,0; encontrado: 277,0. ¹H RMN (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 7,70 (1H, s), 3,77 (3H, s), 2,57 (3H, s), 2,50 (3H, s) ppm.

Paso 2. 1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol

[0337] Tetrahidroborato de sodio (0,31 g, 8,1 mmol) se añadió a una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (1,5 g, 5,4 mmol) en metanol (25 ml) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, luego se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 40% de EtOAc en hexanos, para dar el producto deseado (0,30 g, 90%).

Paso 3. 3-Bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-metoxi-2-metilbenceno

[0338] Una mezcla de cloruro cianúrico (1,7 g, 9,2 mmol) y *N,N*-dimetilformamida (710 µL, 9,2 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego una solución de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanol (del Ejemplo 16, Paso 1) (1,72 g, Se añadieron 6,15 mmol) en cloruro de metileno (34 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, secada sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 10% de EtOAc en hexanos, para dar el producto deseado (1,01 g, 60%).

Paso 4. 1-[1-(3-Bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0339] Una mezcla de 3-bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-metoxi-2-metilbenceno (150 mg, 0,503 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (110 mg, 0,76 mmol, lista de productos farmacéuticos ACES, artículo nº 47024), yoduro de potasio (9,0 mg, 0,05 mmol) y carbonato de cesio (330 mg, 1,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (4 mL) y se agitó a 140°C durante 1 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, secada sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 70% de EtOAc en CH₂Cl₂, para dar el producto deseado (103 mg, 50%). LCMS calculada para C₁₆H₁₈BrClN₅O (M+H)⁺: m/z = 410,0; Encontrado: 410,2. Los productos racémicos se aplicaron en una columna Phenomenex Lux-Cellulose 1 (21,1 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras), eluyendo con etanol al 5% en hexanos

a un caudal de 18 ml/min, ~ 13 mg/inyección, para proporcionar dos enantiómeros. Pico 1, tiempo de retención: 12,35 min; Pico 2, tiempo de retención: 14,98 min.

5 **Paso 5.** 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

10 **[0340]** Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (25 mg, 0,061 mmol) (primer pico de separación quiral del paso anterior), N,N-dimetilo-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carboxamida (25 mg, 0,091 mmol, de PepTech Corp. Enciclopedia de análogos de aminoácidos y ácidos borónicos, artículo nº BE1622-1), carbonato de sodio (13 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (9,9 mg, 0,012 mmol) en acetonitrilo (0,8 ml)/agua (0,3 ml) se desgaseó con N₂ y después se agitó a 95°C durante 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA (2,9 mg, 6,7%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₄H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,78 (2H, br s), 8,48 (1H, m), 8,36 (1H, s), 7,86 (1H, br s), 7,65 (1H, s br), 7,58 (1H, s), 6,33 (1H, q, J = 7,0 Hz), 3,19 (3H, s), 3,03 (3H, s), 2,97 (3H, s), 2,62 (3H, s), 2,06 (3H, s), 1,81 (3H, d, J = 7,0 Hz) ppm.

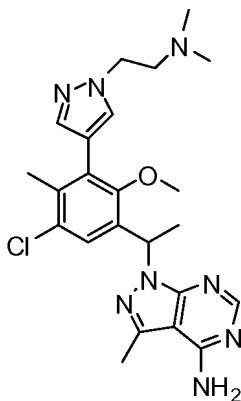
20 **Ejemplo 183.** 1-[1-(5-Cloro-3-{1-[2-(dimetilamino)etilo]-1H-pirazol-4-ilo}-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0341]

25

30

35



40 **Paso 1.** 1-(2-cloroetilo)-4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol

45 **[0342]** Una mezcla de 4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol (0,39 g, 2,0 mmol), 1-bromo-2-cloroetano (0,3 ml, 3 mmol) y carbonato de cesio (1,3 g, 4,0 mmol) en acetonitrilo (6 mL) se agitó a 75°C durante 5 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución sat. NaHCO₃, agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró y el producto (0,45 g, 88%) se purificó por cromatografía eluyendo con hexanos/EtOAc (EtOAc máx. 30%). LCMS calculada para C₁₁H₁₉BClN₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 257,1; Encontrado: 257,0

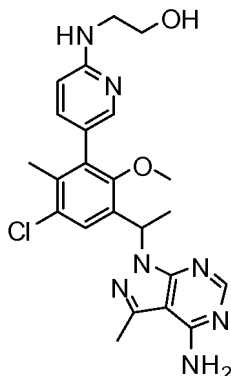
Paso 2. N,N-Dimetilo-2-[4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]etanamina

50 **[0343]** Una mezcla de 1-(2-cloroetilo)-4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol (0,10 g, 0,39 mmol), se agitó yoduro de sodio (58 mg, 0,39 mmol) y dimetilamina 2,0 M en THF (1,0 ml, 2,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,5 ml) a 80°C durante la noche. El disolvente se eliminó para proporcionar el producto deseado que se usó en el siguiente paso. LCMS calculada para C₁₃H₂₅BN₃O₂ (M+H)⁺: m/z = 266,2; Encontrado: 266,3

55 **Paso 3.** 1-[1-(5-cloro-3-{1-[2-(dimetilamino)etilo]-1H-pirazol-4-ilo}-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

60 **[0344]** Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (pico 1 del Ejemplo 167, Paso 4, 10 mg, 0,024 mmol), N,N-dimetilo-2-[4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]etanamina (8,6 mg, 0,036 mmol), carbonato de sodio (5,2 mg, 0,049 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (4,0 mg, 0,0049 mmol) en acetonitrilo (0,5 ml)/agua (0,1 ml) se aspiró y se rellenó con N₂ y se agitó a 95°C durante 2 h. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (3,1 mg, 28%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₀ClN₈O (M+H)⁺: m/z = 469,2; Encontrado: 469,2.

65

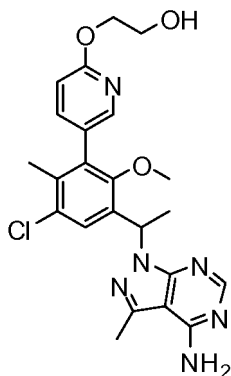
Ejemplo 184. 2-[(5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ilo)amino]etanol**[0345]**

5
10
15
20 **Paso 1. 1-[1-[5-Cloro-3-(6-fluoropiridina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina**

25 **[0346]** Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (pico 1 del Ejemplo 167, Paso 4, 25,0 mg, 0,06 mmol), 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina (20. mg, 0,088 mmol), carbonato de sodio (12 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (9,5 mg, 0,012 mmol) en acetonitrilo (1 ml)/agua (0,3 ml) se desgasificó con N₂ y la agitó a 95°C durante 2 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (máx. MeOH 5%). LCMS calculada para C₂₁H₂₁ClFN₆O (M+H)⁺: m/z = 427; Encontrado: 427,2.

30 **Paso 2. 2-[(5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ilo)amino]etanol**

35 **[0347]** Una mezcla de 1-[1-[5-cloro-3-(6-fluoropiridina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (10 mg, 0,023 mmol) y etanolamina (0,10 mL) en 1-butanol (1 mL) se agitó a 130°C por 5 h. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (1,6 mg, 15%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 468,2; Encontrado: 468,2.

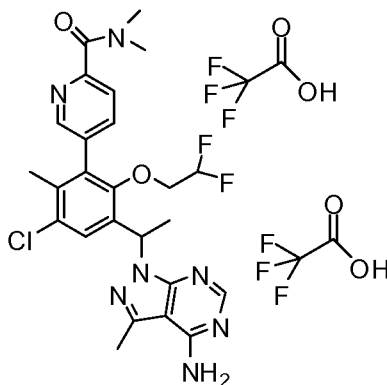
Ejemplo 188. 2-(5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ilo)amino]etanol**[0348]**

50
55
60 **[0349]** Hidruro de sodio (20 mg, 0,5 mmol) se añadió a 1,2-etanodiol (0,5 ml, 9 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 10 min. En este momento 1-[1-[5-cloro-3-(6-fluoropiridina-3-ilo)-2-metoxi-4-metilfenilo]etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (10 mg, 0,023 mmol) se añadió y luego la reacción se agitó a 110°C durante la noche. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (1,8 mg, 17%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₂₆ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 469,2;

Encontrado: 469,1.

Ejemplo 189. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-(2,2-difluoroetoxi)-6-metilfenilo)-*N,N*-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0350]



Paso 1. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-hidroxi-6-metilfenilo)-*N,N*-dimetilpicolinamida

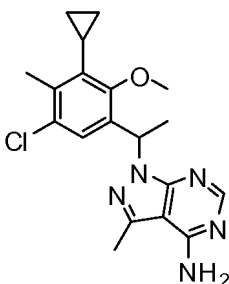
[0351] Tribromuro de boro 1,0 M en CH_2Cl_2 (250 μL , 0,25 mmol) se añadió a una mezcla de 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (Ejemplo 167, paso 5, (primer pico) 60 mg, 0,13 mmol) en cloruro de metileno (1,2 ml) a -78°C y luego la reacción se calentó a temperatura ambiente. En este momento se añadió HCl conc. (0,1 ml) y la mezcla se agitó durante 4 h. La reacción se apagó mediante la adición de $\text{NaHCO}_3 \text{ saf.}$ La mezcla se extrajo luego con cloruro de metileno. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron para dar el producto bruto deseado (40 mg, 68%) que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{ClN}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 466,2$; Encontrado: 466,2.

Paso 2. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-(2,2-difluoroetoxi)-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida

[0352] Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (13 μL , 0,064 mmol) a una mezcla de 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-hidroxi-6-metilfenilo}-*N,N*-dimetilpiridina-2-carboxamida (15 mg, 0,0322 mmol), 2,2-difluoroetanol (7,9 mg, 0,096 mmol, de Alfa Aesar, artículo nº B22201) y trifetilfosfina (17 mg, 0,064 mmol) en tetrahidrofurano (0,5 mL) a 0°C y luego la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El crudo se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA (1,6 mg, 6,6%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClF}_2\text{N}_7\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 530,2$; Encontrado: 530,2

Ejemplo 192. 1-[1-(5-cloro-3-ciclopropilo-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0353]

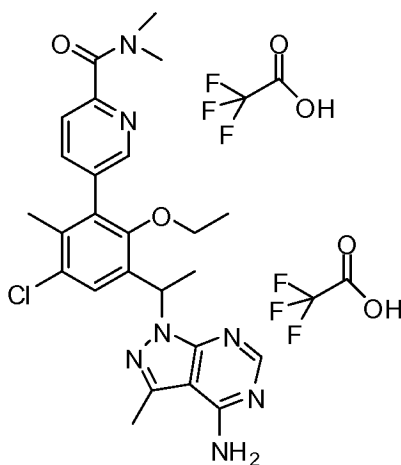


[0354] Se añadió a un vial de microondas de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (15 mg, 0,037 mmol, del Pico 1 del Ejemplo 167, Paso 4), ciclopropiltrifluoroborato

de potasio (8 mg, 0,06 mmol, de Frontier Scientific, artículo nº C10298), fosfato de potasio (23 mg, 0,11 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (4,2 mg, 0,0036 mmol) y luego tolueno (0,3 ml)/agua (0,1 ml). El vial se selló y se desgasificó con N₂ tres veces. La reacción se calentó a 110°C durante 20 h. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (1,1 mg, 8%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₁₉H₂₃ClN₅O (M+H)⁺: m/z = 372,2; Encontrado: 372,2.

Ejemplo 195. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0355]



Paso 1. 1-(3-Bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etanona

[0356] En un matraz de fondo redondo se colocó 1-(3-bromo-5-cloro-2-hidroxi-4-metilfenilo)etanona (6,0 g, 23 mmol) en DMF anhidro (22,8 ml). Luego se añadió carbonato de potasio (6,3 g, 46 mmol) seguido de yodoetano (2,73 ml, 34,2 mmol). La suspensión resultante se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se vertió en 100 ml de agua y se extrajo con 200 ml de éter etílico. Las capas orgánicas se separaron, se combinaron y se lavaron con agua y solución saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron hasta 6,0 g de aceite de color tostado. LCMS calculada para C₁₁H₁₃BrClO₂ (M+H)⁺: m/z = 293,0; Encontrado: 293,0

Paso 2. 1-(3-Bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etanol

[0357] Se añadió tetrahidrobórato de sodio (0,31 g, 8,1 mmol) a una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etanona (1,5 g, 5,4 mmol) en metanol (25 ml) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, luego se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc del 0 al 30% en hexanos (0,30 g, 90%).

Paso 3. 3-Bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-etoxi-2-metilbenceno

[0358] Una mezcla de cloruro cianúrico (1,7 g, 9,2 mmol) y N,N-dimetilformamida (710 µL, 9,2 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego una solución de 1-(3-bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etanol (1,72 g, 6,15 mmol) en cloruro de metileno (34 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 10% de EtOAc en hexanos (1,01 g, 60%).

Paso 4. 1-(1-(3-Bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0359] Una mezcla de 3-bromo-1-cloro-5-(1-cloroetilo)-4-etoxi-2-metilbenceno (150 mg, 0,50 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (110 mg, 0,76 mmol), yoduro de potasio (9 mg, 0,05 mmol) y carbonato de cesio (330 mg, 1,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) a 140°C durante 1 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con 0 a 70% de EtOAc en CH₂Cl₂ (103 mg, 50%). LCMS calculada para C₁₇H₂₀BrClN₅O (M+H)⁺: m/z = 423,1; Encontrado: 423,0. Los productos racémicos se aplicaron en una columna Phenomenex Lux-Cellulose 1 (21,1 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras), eluyendo con etanol al 4% en hexanos a un caudal de 18 ml/min, ~ 13 mg/inyección, para proporcionar dos enantiómeros. Pico

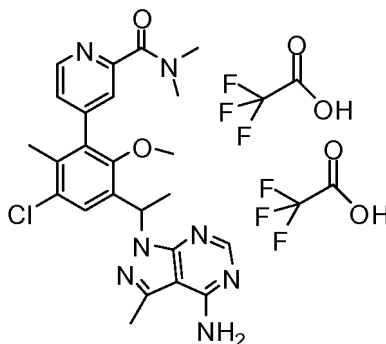
1, tiempo de retención: 8,64 min; Pico 2, tiempo de retención: 10,64 min.

Paso 5. 5-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0360] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (25 mg, 0,061 mmol) (primer pico de separación quiral del paso anterior), N,N-dimetilo-5-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carboxamida (25 mg, 0,09 mmol), carbonato de sodio (13 mg, 0,12 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (9,9 mg, 0,012 mmol) en acetonitrilo (0,8 ml)/agua (0,3 ml) se desgasificó con N₂ y después se agitó a 95°C durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA (2,3 mg, 5%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₅H₂₉ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 494,2; Encontrado: 494,2.

Ejemplo 200. 4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0361]



Paso 1. 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo

[0362] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (pico 1 del Ejemplo 167, Paso 4, 322 mg, 0,76 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)piridina-2-carbonitrilo (210 mg, 0,91 mmol, del Catálogo Combi-Blocks, artículo nº PN-0143), carbonato de sodio (130 mg, 1,2 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (99 mg, 0,12 mmol) en acetonitrilo (5 ml)/agua (2 ml) se desgasificó con N₂ y la reacción se agitó a 95°C durante 2 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto (0,28 g, 85%) se purificó por cromatografía eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (máx. MeOH 6%). LCMS calculada para C₂₂H₂₁ClN₇O (M+H)⁺: m/z = 434,1; Encontrado: 434,1

Paso 2. 4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)dihidrocloruro de ácido picolínico

[0363] Hidróxido de sodio 1,0 M (2,9 ml, 2,9 mmol) se añadió a una mezcla de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-carbonitrilo (0,250 g, 0,576 mmol) en etanol (4,0 mL) y la mezcla resultante se calentó a 95°C durante 6 h. En este momento, se añadió HCl conc. para ajustar el pH a ~ 3. El disolvente se eliminó y el residuo se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS calculada para C₂₂H₂₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 453,1; Encontrado: 453,2.

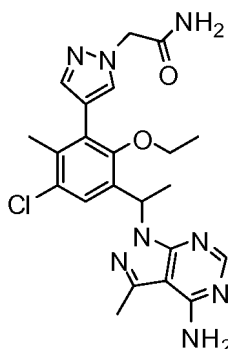
Paso 3. 4-(3-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-N,N-dimetilpicolinamida bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0364] Se añadió dimetilamina 2,0 M en THF (2,0 ml, 4,0 mmol) a una solución de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}piridina-2-ácido carboxílico (250 mg, 0,552 mmol) y benzotriazol-1-iloxtiris(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (370 mg, 0,83 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) a 0°C seguido de la adición de trietilamina (0,23 ml, 1,6 mmol). La reacción se agitó durante 1 h. La mezcla cruda se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado como sal bis-TFA. El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₄H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 480,2; Encontrado: 480,2. ¹H RMN (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 8,67 (br s, 1 H), 8,36 (s, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,41 (m, 2 H), 6,32 (q, 2 H), 3,20

(s, 3 H), 3,00 (s, 3 H), 2,94 (s, 3 H), 2,62 (s, 3 H), 2,03 (s, 3 H), 1,80 (d, 3 H) ppm.

Ejemplo 203. 2-(4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)acetamida

[0365]



Paso 1. [4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]acetato de terc-butilo

[0366] Se añadió *tert*-butóxido de potasio 1,0 M en THF (2,4 ml, 2,4 mmol) a una solución de 4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol (0,39 g, 2,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (6,0 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. Después de enfriar a 0°C, a la mezcla se le añadió bromoacetato de *t*-butilo (0,5 ml, 3 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto (0,5 g, 81%) se purificó por cromatografía eluyendo con hexanos/EtOAc (EtOAc máx. 30%). LCMS calculada para C₁₅H₂₆BN₂O₄ (M+H)⁺: m/z = 309,2; Encontrado: 309,1

Paso 2. (4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)acetato de terc-butilo

[0367] Una mezcla de 1-[1-(3-bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (70 mg, 0,16 mmol) (primer pico del Ejemplo 195, Paso 4), [4-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]acetato de *tert*-butilo (65 mg, 0,21 mmol), carbonato de sodio (30 mg, 0,28 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (23 mg, 0,028 mmol) en acetonitrilo (3 ml)/agua (0,7 ml) se desgasificó con N₂ y luego se agitó a 95°C por 2 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con solución NaHCO₃ sat., agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto (65 mg, 78%) se purificó por cromatografía eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (max. MeOH 5%). LCMS calculada para C₂₆H₃₃ClN₇O₃ (M+H)⁺: m/z = 526,2; Encontrado: 526,3.

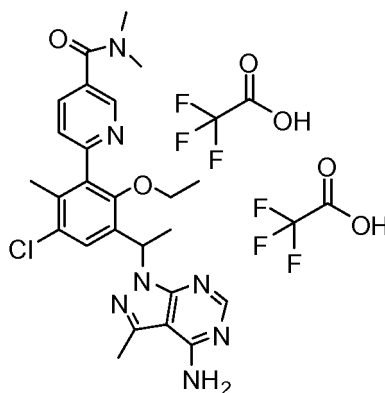
Paso 3. (4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)ácido acético bis trifluoroacetato

[0368] Se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml) a una solución de (4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)acetato de *tert*-butilo (0,065 g, 0,12 mmol) en cloruro de metileno (0,5 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El disolvente se eliminó para proporcionar el producto bruto que se usó en el siguiente paso. LCMS calculada para C₂₂H₂₅ClN₇O₃ (M+H)⁺: m/z = 470,2; Encontrado: 470,1

Paso 4. 2-(4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2 etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)acetamida

[0369] Carbonato de amonio (20 mg, 0,21 mmol) se añadió a una solución de (4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-1H-pirazol-1-ilo)ácido acético bis trifluoroacetato (10 mg, 0,021 mmol) y benzotriazol-1-iloxitri(na)dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (10 mg, 0,03 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,7 ml) a temperatura ambiente seguido de trietilamina (8,8 µL, 0,064 mmol). La reacción se agitó durante 1 h. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (2,5 mg, 25%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₂H₂₆ClN₈O₂ (M+H)⁺: m/z = 469,2; Encontrado: 469,2.

Ejemplo 208. 6-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-

N,N-dimetilnicotinamida bis(trifluoroacetato)**[0370]**

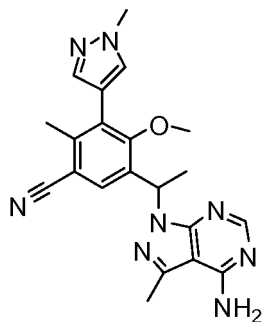
20 **Paso 1.** 1-[1-(5-cloro-2-etoxi-4-metilo-3-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)fenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

25 **[0371]** 1-[1-(3-Bromo-5-cloro-2-etoxi-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,050 g, 0,12 mmol, Pico 1 del Ejemplo 195, Paso 4) se combinó en un vial de microondas con acetato de potasio (0,035 g, 0,35 mmol) y 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametilo-[2,2']bi[[1,3,2]dioxaborolanilo] (0,060 g, 0,24 mmol) en dimetilsulfóxido (0,44 ml) a temperatura ambiente. Esto se desgasificó con nitrógeno y luego se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (0,01 g, 0,01 mmol). La reacción se calentó en un baño de aceite a 105°C durante la noche. Esto se dejó enfriar, luego se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. El producto (15 mg, 20%) se purificó por cromatografía eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (max. MeOH 10%). LCMS calculada para C₂₃H₃₂BClN₅O₃ (M+H)⁺: m/z = 472,2; Encontrado: 472,3.

30 **Paso 2.** 6-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-N,N-dimetilnicotinamida bis(trifluoroacetato)

35 **[0372]** Una mezcla de 1-[1-(5-cloro-2-etoxi-4-metilo-3-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)fenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (15 mg, 0,032 mmol), 6-cloro-N,N-dimetilnicotinamida (12 mg, 0,064 mmol), carbonato de sodio (9,0 mg, 0,085 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (6,9 mg, 0,0085 mmol) en acetonitrilo (0,9 ml)/agua (0,2 ml) se desgasificó con N₂ y después se agitó a 95°C durante la noche. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05%, a una velocidad de flujo de 30 mL/min) para dar el producto deseado como sal TFA (2mg, 9%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₅H₂₉ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 494,2; Encontrado: 494,2.

45 **Ejemplo 209.** 5-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-4-metoxi-2-metilo-3-(1-metilo-1H-pirazol-4-ilo)benzonitrilo

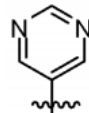
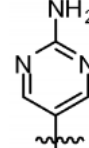
[0373]

60 **[0374]** Catalizador preformado (0,05 ml, procedente del Ejemplo 40) se añadió a una mezcla de 1-[1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(1-metilo-1H-pirazol-4-ilo)fenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (7,7 mg, 0,019 mmol), zinc (0,54 mg, 0,0082 mmol) y cianuro de zinc (2,2 mg, 0,019 mmol) en N,N-dimetilacetamida (0,3 ml). La mezcla se desgasificó con nitrógeno 3 veces. La reacción se calentó a 120°C durante 1,5 h. El crudo se purificó usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al

0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado (2,1 mg, 27%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₁H₂₃N₈O (M+H)⁺: m/z = 403,2; Encontrado: 403,2.

[0375] Los procedimientos experimentales y los datos espectrales de masas (EM) de LCMS para los compuestos a continuación se resumen en la Tabla 1.

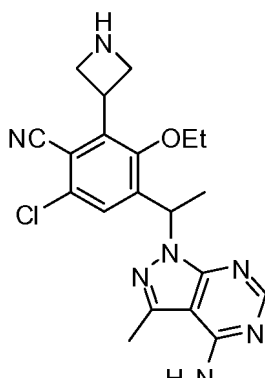
Tabla 1

Nº Ej.	Nombre	R ²	R ⁴	R ⁵	R ³	Sal	Proc. ¹	MS [M+H] ⁺
168	1-(1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-(pirimidina-5-ilo)fenilo)etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina ²	Me	Me	Cl		2TFA	167	425,1
169	1-(1-(3-(2-aminopirimidina-5-ilo)-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etilo)-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina ²	Me	Me	Cl			167	425,1

¹Sintetizado según el procedimiento experimental del compuesto listado;
²Compuesto aislado como un enantiómero único.

Ejemplo 212. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo

[0376]



Paso 1. 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona

[0377] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 13, Paso 3 para formar un intermedio racémico, usando yodoetano en lugar de yodometano como material de partida con un rendimiento del 90%. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,94 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 2,61 (s, 3H), 1,48 (t, J = 7,0 Hz, 3H). LCMS para C₁₀H₁₀ClFIO₂ (M+H)⁺: m/z = 342,9, 344,9; Encontrado: 342,9, 344,8.

Paso 2. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo

[0378] Una solución de 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona (7,3 g, 21 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (80 ml) se trató con cianuro de potasio (2,1 g, 32 mmol) y se agitó a 40°C durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio/agua (1:1). La capa orgánica se separó, se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar un aceite marrón crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0% - 30%) para dar el producto deseado (6,1 g, 81%) como un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (s, 1H), 3,93 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,61 (s, 3H), 1,47 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS para C₁₁H₁₀ClINO₂ (M+H)⁺: *m/z* = 349,9; Encontrado: 349,9.

10 **Paso 3. 3-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo**

[0379] Zinc (4,60 g, 70,3 mmol) y Celite secado al horno (870 mg) se añadió a un matraz y el matraz se calentó con una pistola de calor mientras estaba bajo alta aspiración durante 5 minutos y luego se volvió a llenar con nitrógeno. Se añadió *N,N*-dimetilacetamida (57 ml), seguido de 1,2-dibromoetano (430 µl, 5,0 mmol) y la mezcla se calentó a 70°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se trató con clorotrimetilsilano (630 ml, 5,0 mmol) gota a gota y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se trató con una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (18 g, 62 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (28 ml) gota a gota (la temperatura interna se mantuvo por debajo de 40°C con un baño de agua.) y se calentó a 40°C durante 2 h. El reactivo de zinc-yodo (transferido a través de una cánula) se filtró a través de un filtro de plástico (que se selló adecuadamente para evitar la exposición a la atmósfera) directamente en un matraz limpio y seco que se enjuagó con nitrógeno. La mezcla de reacción se trató con tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (720 mg, 0,79 mmol) y tri-(2-furilo)fosfina (370 mg, 1,6 mmol) y se desgasificó con nitrógeno durante unos minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo (14 g, 41 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (130 ml) (desgasificada con nitrógeno) rápidamente y se calentó a 70°C durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (4 x 500 ml) y salmuera (1 x 500 ml), se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite oscuro crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (5% - 45%) para dar el producto deseado (14 g, 88%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,46 (s, 1H), 4,42 -4,20 (m, 5H), 3,80 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,59 (s, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS para C₁₅H₁₆ClN₂O₄ ([M-(*t*-Bu)+H]⁺): *m/z* = 323,1; Encontrado: 323,0.

Paso 4. 3-[3-cloro-2-ciano-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)fenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

[0380] Una solución de (3*a*S)-1-metilo-3,3-difeniltetrahidropirrol[1,2-*c*][1,3,2]oxazaborol (9,7 g, 35 mmol) en tetrahydrofurano (100 ml) se trató con complejo de borano-THF 1,0 M en tetrahydrofurano (42 ml, 42 mmol) y se agitó a 20°C durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió a -30°C y se trató con una solución de 3-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (13 g, 35 mmol) en tetrahydrofurano (110 ml) lentamente. El matraz que contenía el material de partida cetona se enjuagó con tetrahydrofurano adicional (20 ml) y se añadió a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C durante un periodo de 30 minutos y se agitó a 0°C durante 15 minutos. La mezcla de reacción se inactivó con agua a 0°C, se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite oscuro crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0% - 70%) para dar el producto deseado (10,4 g, 78%) como una espuma amarilla como una mezcla 98: 2 de enantiómeros (tiempos de retención = 7,73 min y 9,41 min; columna ChiralPak AD-H, 4,6 x 150 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 5% en hexanos a 1 ml/min). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,56 (s, 1H), 5,15-5,07 (m, 1H), 4,41-4,17 (m, 5H), 3,74 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,12 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 1,49 - 1,37 (m, 15H). LCMS para C₁₅H₁₈ClN₂O₄ ([M-(*t*-Bu)+H]⁺): *m/z* = 325,1; Encontrado: 325,1.

50 **Paso 5. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo**

[0381] Una solución de 3-[3-cloro-2-ciano-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)fenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (98: 2 mezclas de enantiómeros del Paso 4) (10 g, 27 mmol) en cloruro de metileno (260 ml) a 0°C se trataron con trietilamina (11 ml, 82 mmol) seguido de anhídrido metanosulfónico (7,1 g, 41 mmol) y se agitó a 0°C durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el mesilato bruto que se usó sin purificación adicional. Una solución del mesilato bruto intermedio en *N,N*-dimetilformamida (140 ml) se trató con carbonato de cesio (13 g, 41 mmol) y 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-4-amina (4,7 g, 31 mmol) y se calentó a 60°C durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash (100% de diclorometano a 70% de acetonitrilo que contenía 3% de metanol/30% de diclorometano) para dar el producto deseado (8,7 g, 62% en 2 etapas) como una espuma amarilla como 95: 5 mezcla de enantiómeros (TA = 4,29 min y 6,00 min; columna Phenomenex Lux Cellulose C-1, 4,6 x 150 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 15% en hexanos a 1 ml/min). Este material se separó mediante HPLC quiral (columna Phenomenex Lux Cellulose C-1, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol

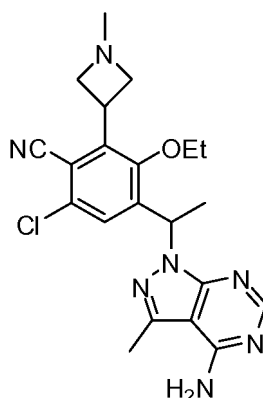
al 15% en hexanos a 10 ml/min) para dar 7,0 g del material Pico 1 deseado (tiempo de retención de 8,20 min). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8,24 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 6,32 (q, $J = 7,1$ Hz, 1H), 5,48 (br s, 2H), 4,40-4,18 (m, 5H), 4,05-3,93 (m, 1H), 3,81 - 3,65 (m, 1H), 2,64 (s, 3H), 1,81 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,48 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,43 (s, 9H). LCMS para $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{ClN}_7\text{O}_3$ (M+H) $^+$: m/z = 512,2; Encontrado: 512,3.

Paso 6. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo

[0382] Una solución de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (enantiómero Pico 1 del paso 5) (2,2 g, 4,2 mmol) en cloruro de metileno (11 ml) se trató con ácido trifluoroacético (11 ml) gota a gota y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró hasta un aceite que se reconcentró a partir de etanol (2x) para dar un residuo. Este material se disolvió en una cantidad mínima de metanol, se añadió gota a gota a una solución saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo (100 ml) y se extrajo varias veces con diclorometano/isopropanol 2:1 para dar el producto deseado (1,8 g, cuantitativo) que se usó sin más purificación. Una pequeña cantidad del producto deseado se purificó por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a caudal de 60 ml/min) para dar el producto deseado. El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,11 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,23 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 4,37-4,26 (m, 1H), 3,91 - 3,61 (m, 6H), 2,54 (s, 3H), 1,71 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,32 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClN}_7\text{O}$ (M+H) $^+$: m/z = 412,2; Encontrado: 412,1.

Ejemplo 213. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(1-metilacetidina-3-ilo)benzonitrilo

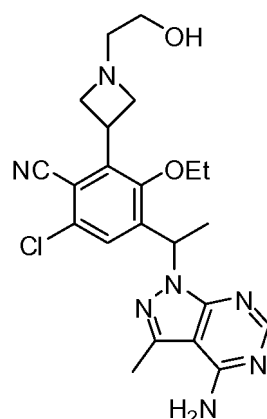
[0383]



[0384] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (Intermedio quiral en el Ejemplo 212, Paso 6) (0,30 g, 0,73 mmol) en metanol (7,3 ml) se trató con formaldehído (37% en agua) (0,54 mL, 7,3 mmol) y esto se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. La mezcla de reacción se trató con cianoborohidruro de sodio (0,092 g, 1,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (0,16 g, 50 %). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,11 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 6,27 - 6,18 (m, 1H), 4,10 - 3,98 (m, 1H), 3,96 - 3,86 (m, 2H), 3,83 - 3,74 (m, 1H), 3,72 - 3,64 (m, 1H), 3,10 - 2,98 (m, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,71 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,32 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClN}_7\text{O}$ (M+H) $^+$: m/z = 426,2; Encontrado: 426,2.

Ejemplo 219. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxietilo)acetidina-3-ilo]benzonitrilo

[0385]



5

10

15

[0386] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (300 mg, 0,74 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 212) en tetrahidrofurano (14 ml) se trató con trietilamina (260 μ L, 1,8 mmol) seguido de 2-bromoetanol (63 μ L, 0,89 mmol) gota a gota y se agitó a 60°C durante 6 h. La mezcla de reacción se trató con 2-bromoetanol adicional (26 μ L, 0,37 mmol) y se agitó a 60°C durante otras 6 h. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se concentró y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (0,15 g, 44%). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,19 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 6,36 - 6,25 (m, 1H), 4,48 (br s, 1H), 4,19 a 4,7 (m, 1H), 4,04 - 3,94 (m, 2H), 3,91 - 3,82 (m, 1H), 3,81 - 3,72 (m, 1H), 3,20 - 3,08 (m, 2H), 2,62 (s, 2H), 2,57 (s, 3H), 1,79 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,40 (t, J = 6,6 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z = 456,2; Encontrado: 456,1.

20

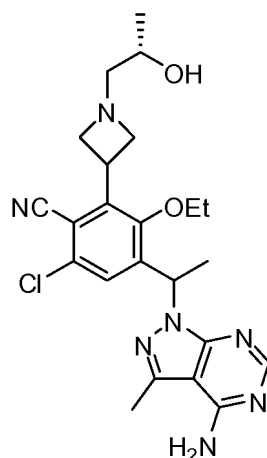
25

Ejemplo 220. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-{1-[(2S)-2-hidroxiopropil]acetidina-3-ilo} benzonitrilo

30

[0387]

35



40

45

50

[0388] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (50 mg, 0,12 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 212) en etanol (1,7 ml) se trató con (S)-(-)-metiloxirano (21 μ L, 0,30 mmol) y se calentó en el microondas a 125°C durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (27 mg, 47 %). El producto se aisló como un diastereómero único. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 6,23 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,35 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 4,13 - 3,99 (m, 1H), 3,97 - 3,88 (m, 2H), 3,85 - 3,63 (m, 2H), 3,61 - 3,51 (m, 1H), 3,15 - 2,99 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,28 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 1,71 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 1,32 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,00 (d, J = 6,2 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{ClN}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z = 470,2; Encontrado: 470,2.

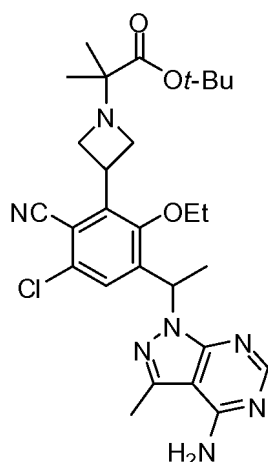
55

60

Ejemplo 236. 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo

65

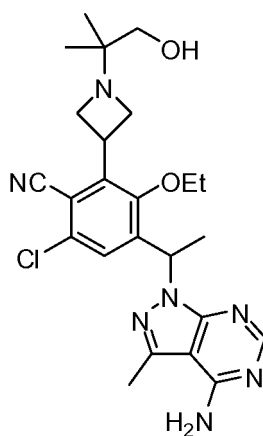
[0389]



[0390] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (0,38 g, 0,92 mmol, el intermedio quiral del Ejemplo 212) en *N,N*-dimetilformamida (4,6 ml) se trató con carbonato de potasio (0,51 g, 3,7 mmol) seguido de 2-bromo-2-metilpropanoato de *tert*-butilo (0,86 ml, 4,6 mmol) y se calentó a 60°C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró hasta un aceite crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando metanol en diclorometano (0% - 10%) para dar el producto deseado (0,43 g, 83%). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,10 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 6,22 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,12 - 3,97 (m, 1H), 3,88 - 3,70 (m, 4H), 3,62 - 3,48 (m, 2H), 2,54 (s, 3H), 1,70 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,33 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,17 (s, 9H), 1,05 (s, 6H). LCMS para C₂₈H₃₇ClN₇O₃ (M+H)⁺: *m/z* = 554,3; Encontrado: 554,3.

Ejemplo 237. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxi-1,1-dimetiletilo)acetidina-3-ilo]benzonitrilo

[0391]



Paso 1. 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2-ácido metilpropanoico bis(trifluoroacetato)

[0392] 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2-metilpropanoato de *tert*-butilo (0,36 g, 0,65 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 236) se disolvió en una solución premezclada de ácido trifluoroacético (3,2 ml)/agua (0,065 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y a 50°C durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró y se volvió a concentrar a partir de acetonitrilo (2x) para dar el producto deseado como una goma. Esta goma se trató con una pequeña cantidad de metilo-*tert*-butiléter que se agitó hasta que se formó un sólido. El metilo-*tert*-butiléter se decantó y el residuo se concentró para dar el producto deseado (0,51 g, 109%) que se usó sin purificación adicional. LCMS para C₂₄H₂₉ClN₇O₃ (M+H)⁺: *m/z* = 498,2; Encontrado: 498,3.

Paso 2. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxi-1,1-dimetiletilo)acetidina-3-ilo] benzonitrilo

5 **[0393]** Una solución de 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2 Se enfrió bis(trifluoroacetato) de ácido metilpropanoico (0,10 g, 0,16 mmol) en tetrahydrofurano (0,9 ml) a -25°C, se trató con 4-metilmorfolina (0,072 ml, 0,65 mmol) y cloroformiato de isobutilo (0,085 ml, 0,65 mmol) y se agitó a -15°C durante 15 min. La mezcla de reacción se filtró a través de un cartucho de filtro desechable en un matraz de fondo redondo separado. Esta solución se enfrió luego a -20°C y se añadió gota a gota una solución de tetrahydroborato de sodio (0,031 g, 0,82 mmol) en una cantidad mínima de agua. La mezcla de reacción se agitó a -15°C durante 30 minutos, se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se concentró, se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) para dar el producto deseado. (3,5 mg, 4%). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,35 (br s, 2H), 6,23 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,44 - 4,35 (m, 1H), 4,04 - 3,88 (m, 1H), 3,86 - 3,73 (m, 1H), 3,72 - 3,57 (m, 3H), 3,12 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H), 2,54 (s, 3H), 1,71 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,31 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,80 (s, 6H). LCMS para C₂₄H₃₁ClN₇O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 484,2; Encontrado: 484,2.

20 **Ejemplo 239. 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2-metilpropanamida**

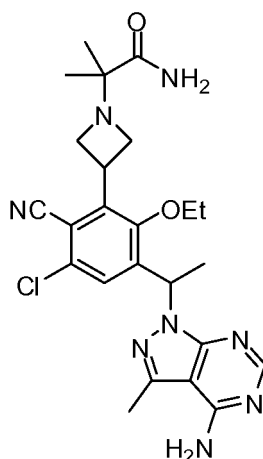
[0394]

25

30

35

40



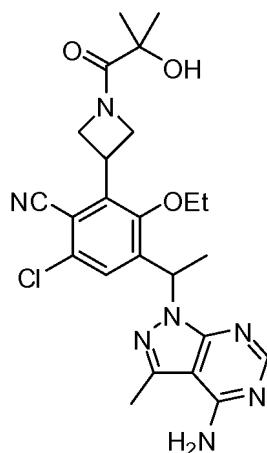
45 **[0395]** Una solución de 2-(3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-ilo)-2-ácido metilpropanoico bis(trifluoroacetato) (0,05 g, 0,069 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 237, Paso 1) y se trató amoníaco 2,0 M en etanol (0,17 ml, 0,34 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (1 ml) con trietilamina (0,048 ml, 0,35 mmol) y benzotriazol-1-ilo xitrina(dimetilamino)hexafluorofosfato de fosfonio (0,046 g, 0,10 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con unas pocas gotas de agua, se diluyó con metanol y se purificó por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a un caudal de 60 ml/min) para dar el producto deseado (25 mg, 73%). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,23 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,09 - 3,96 (m, 1H), 3,84 - 3,61 (m, 4H), 3,39 - 3,34 (m, 1H), 3,32 - 3,28 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 1,71 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,31 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,02 (s, 6H). LCMS para C₂₄H₃₀ClN₈O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 497,2; Encontrado: 497,3.

55 **Ejemplo 247. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxi-2-metilpropanoilo)acetidina-3-ilo]benzonitrilo**

[0396]

60

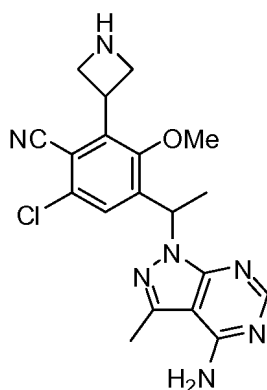
65



5
10
15
20 **[0397]** Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (0,04 g, 0,097 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 212) y ácido propanoico, 2-hidroxi-2-metilo-(0,012 g, 0,12 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,54 mL) se trató con trietilamina (0,034 mL, 0,24 mmol) seguido de *O*-(benzotriazol-1-ilo)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato (0,048 g, 0,13 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y acetonitrilo y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de metanol/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (7 mg, 14%). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,25 (q, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,88-4,77 (m, 1H), 4,73-4,60 (m, 1H), 4,50-4,35 (m, 1H), 4,29-4,09 (m, 2H), 3,85-3,73 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 1,73 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,37 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,22 (s, 3H). LCMS para C₂₄H₂₉ClN₇O₃ (M+H)⁺: *m/z* = 498,2; Encontrado: 498,2.

35 **Ejemplo 261. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo**

40 **[0398]**



45 **Paso 1. 4-acetilo-6-cloro-2-yodo-3-metoxibenzonitrilo**

50
55 **[0399]** Una solución de 1-(5-cloro-4-fluoro-3-yodo-2-metoxifenilo)etanona (intermedio del Ejemplo 13, Paso 3) (18 g, 54 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (200 ml) se trató con cianuro de potasio (5,2 g, 81 mmol) y se agitó a 40°C durante 6 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio/agua (1:1). La capa orgánica se separó, se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar un aceite marrón crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0% - 30%) para dar el producto deseado (11 g, 61%) como un sólido amarillo. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,60 (s, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,62 (s, 3H). LCMS para C₁₀H₈ClINO₂ (M+H)⁺: *m/z* = 335,9; Encontrado: 335,9.

60 **Paso 2. 3-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo**

65 **[0400]** Se añadió zinc (5,0 g, 77 mmoles) y Celite secada al horno (520 mg) a un matraz y el matraz se calentó con

una pistola de calor mientras estaba a alto vacío durante 5 minutos y luego se volvió a llenar con nitrógeno. Se añadió *N,N*-dimetilacetamida (53 ml), seguido de 1,2-dibromoetano (400 µl, 4,6 mmol) y la mezcla se calentó a 70°C durante 15 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se trató con clorotrimetilsilano (580 µl, 4,6 mmol) gota a gota y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se trató con una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (16 g, 58 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (26 ml) gota a gota (la temperatura interna se mantuvo por debajo de 40°C con un baño de agua) y se calentó a 40°C durante 2 h. El reactivo de yodo de zinc (transferido mediante una cánula) se filtró a través de un filtro de plástico (que se selló adecuadamente para evitar la exposición a la atmósfera) directamente en un matraz limpio y seco que se enjuagó con nitrógeno. La mezcla de reacción se trató con tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (670 mg, 0,73 mmol) y tri-(2-furilo)fosfina (340 mg, 1,5 mmol) y se desgasificó con nitrógeno durante unos minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución de 4-acetilo-6-cloro-2-yodo-3-metoxibenzoitrilo (13 g, 39 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (120 ml) (desgasificada con nitrógeno) rápidamente y se calentó a 70°C durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (4 x 500 ml) y salmuera (1 x 500 ml), se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite oscuro crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (5% - 40%) para dar el producto deseado (12 g, 85%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,79 (s, 1H), 4,39-4,29 (m, 1H), 4,28 a 4,11 (m, 4H), 3,68 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 1,38 (s, 9H).

Paso 3. 3-[3-cloro-2-ciano-5-(1-hidroxi-etilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

[0401] Una solución de (3aS)-1-metilo-3, 3-difeniltetrahydro-3*H*-pirrolo[1,2-*c*][1,3,2]oxazaborol (4,3 g, 16 mmol) en tetrahydrofurano (46 ml) se trató con complejo de borano-THF 1,0 M en tetrahydrofurano (19 mL, 19 mmol) y se agitó a 20°C durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió a -30°C y se trató con una solución de 3-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (5,7 g, 16 mmol) en tetrahydrofurano (49 ml) lentamente. El matraz que contenía el material de partida cetona se enjuagó con tetrahydrofurano adicional (9 ml) y se añadió a la mezcla de reacción. La temperatura de la reacción fue -20°C después de que se completó la adición. La mezcla de reacción se calentó a -5°C durante un período de 30 min. La mezcla de reacción se inactivó con agua a 0°C, se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite oscuro crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0% - 100%) para dar el producto deseado (5,5 g, 97%) como una espuma de color beige como una mezcla 97: 3 de enantiómeros (tiempos de retención = 12,19 min y 13,18 min; Columna Phenomenex Lux Cellulose C-2, 4,6 x 150 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 8% en hexanos a 1 ml/min). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,62 (s, 1H), 5,48 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,00-4,90 (m, 1H), 4,43-4,31 (m, 1H), 4,30 -4,10 (m, 4H), 3,66 (s, 3H), 1,38 (s, 9H), 1,29 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS para C₁₄H₁₆CIN₂O₄ ([M-(*t*-Bu)+H]⁺): *m/z* = 311,1; Encontrado: 311,1.

Paso 4. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

[0402] Una solución de 3-[3-cloro-2-ciano-5-(1-hidroxi-etilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (8,6 g, 23 mmol) (mezcla de enantiómeros 97: 3 del Paso 3) en cloruro de metileno (220 ml) a 0°C se trató con trietilamina (8,2 ml, 59 mmol) seguido de anhídrido metanosulfónico (6,1 g, 35 mmol) y se agitó a 0°C durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el mesilato bruto que se usó sin purificación adicional. Una solución del Intermedio de mesilato bruto en *N,N*-dimetilformamida (82 ml) se enfrió a 0°C, se trató con hidruro de sodio (1,2 g, 30 mmol) (60% en aceite mineral) y se agitó a 0°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución de 3-(3-cloro-2-ciano-6-metoxi-5-{1-[(metilsulfonilo)oxi]etilo}fenilo)acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (11 g, 24 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (170 ml) gota a gota durante un período de 10 min y se agitó a 0°C durante 30 min y se calentó a 50°C durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (4 x 150 ml) y salmuera, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash (metanol al 2%/diclorometano al 98% a metanol al 7%/diclorometano al 93% [diclorometano contenía 0,5% de trietilamina]) para dar el producto deseado (9,1 g, 77% para 2 pasos) como una mezcla 9:1 de enantiómeros. Este material se separó por HPLC quiral (tiempos de retención = 5,81 min y 8,94 min; columna Chiracel AD-H, 20 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 10% en hexanos a 18 ml/min, 10 mg/inj) para dar 6,9 g del material de Pico 1 deseado. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,25 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,45-4,33 (m, 1H), 4,27 -4,13 (m, 4H), 3,70 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,37 (s, 9H). LCMS para C₂₀H₂₁CIN₇O₃ ([M-(*t*-Bu)+H]⁺): *m/z* = 442,1; Encontrado: 442,1.

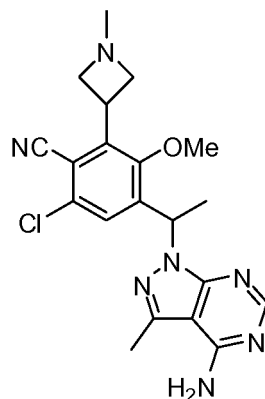
Paso 5. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzoitrilo

[0403] Una solución de 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,7 g, 3,3 mmol) en cloruro de metileno (30 ml) se trató con ácido trifluoroacético (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla de reacción se concentró para dar un residuo que se diluyó con metanol (50 ml) y solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml). Esta

solución acuosa se diluyó con salmuera (50 ml) y se extrajo con una mezcla 5:1 de diclorometano/isopropanol (5 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para dar el producto deseado (1,4 g, 97%). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,34 (br s, 2H), 6,24 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,40 - 4,26 (m, 1H), 3,90 - 3,68 (m, 4H), 3,63 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,72 (d, J = 7,1 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_7\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: m/z = 398,1; Encontrado: 398,1.

Ejemplo 262. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-metoxi-2-(1-metilacetidina-3-ilo)benzonitrilo

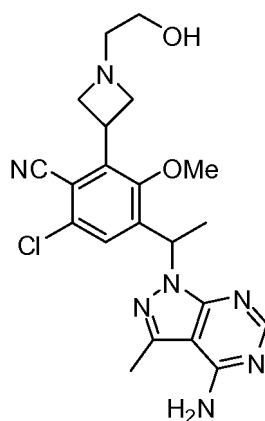
[0404]



[0405] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (Intermedio quiral del Ejemplo 261) (50 mg, 0,13 mmol) en metanol (3 ml) se trató con cianoborohidruro de sodio (20 mg, 0,31 mmol) seguido de formaldehído (37% en agua) (37 μl , 0,50 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético (170 μl , 2,9 mmol), se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a un caudal de 60°C. mL/min) para dar el producto deseado (30 mg, 58%). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,37 (br s, 2H), 6,23 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 4,10 - 3,96 (m, 1H), 3,95 - 3,85 (m, 2H), 3,63 (s, 3H), 3,05 - 2,94 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,72 (d, J = 7,1 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClN}_7\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: m/z = 412,2; Encontrado: 412,1.

Ejemplo 268. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-2-[1-(2-hidroxietilo)acetidina-3-ilo]-3-metoxibenzonitrilo

[0406]



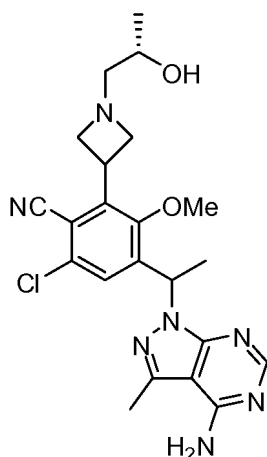
[0407] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (intermedio quiral del Ejemplo 261) (400 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml) se trató con trietilamina (350 μl , 2,5 mmol) y 2-bromoetanol (85 μl , 1,2 mmol) y se agitó a 60°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a un caudal de 60 ml/min) para dar el producto deseado (0,14 g, 31%). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (400 MHz,

DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 6,24 (q, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,41 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,12 - 4,03 (m, 1H), 3,97 - 3,88 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,38 - 3,34 (m, 2H), 3,09 - 3,01 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,41 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 1,72 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H). LCMS para $C_{21}H_{25}ClN_7O_2$ (M+H) $^+$: $m/z = 442,2$; Encontrado: 442,2.

5 [0408] Los compuestos de los Ejemplos 268 y 269 se sintetizaron a partir del mismo intermedio quiral en el Ejemplo 261. De acuerdo con la determinación de la estructura cristalina en el Ejemplo 269, la estereoquímica en el carbono en la posición 1 del grupo etano-1,1-diilo es S. Debido a que el compuesto del Ejemplo 268 se sintetizó a partir del mismo intermedio quiral que el Ejemplo 269, un experto en la materia esperaría que el carbono en la posición 1 del grupo etano-1,1-diilo del Ejemplo 268 también está en la configuración S. Por consiguiente, se cree que el compuesto del Ejemplo 268 es (S)-4-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-(1-(2-hidroxietilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo.

15 **Ejemplo 269.** 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-2-{1-[(2S)-2-hidroxiopropil]acetidina-3-ilo}-3-metoxibenzonitrilo

[0409]



20
25
30
35 [0410] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (Intermedio quiral del Ejemplo 261) (2,5 g, 6,3 mmol) en etanol (130 ml) se trató con (S)-(-)-metiloxirano (1,1 ml, 16 mmol) y calentado en el microondas a 120°C durante 25 min. La mezcla de reacción se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía de columna flash usando metanol en diclorometano (0% - 10%; metanol contenía 0,5% de trietilamina) y por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (0,76 g, 26%). El producto se aisló como un diastereómero único. 1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,34 (br s, 2H), 6,23 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 4,35 (br s, 1H), 4,14 - 3,99 (m, 1H), 3,98 - 3,87 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,60 - 3,52 (m, 1H), 3,13 - 2,99 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,28 (d, $J = 5,9$ Hz, 2H), 1,75 - 1,69 (m, 3H), 1,00 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H). LCMS para $C_{22}H_{27}ClN_7O_2$ (M+H) $^+$: $m/z = 456,2$; Encontrado: 456,2.

Determinación de la estructura cristalina para el compuesto del Ejemplo 269

[0411] $C_{22}H_{26}N_7O_2 \cdot Cl \cdot H_2O$

50 DATOS DE CRISTAL: $C_{22}H_{28}ClF_0N_7O_3$, de ACN/agua, incoloro, aguja, $\sim 0,500 \times 0,070 \times 0,050$ mm, monoclinico, C2, $a = 25,941$ (7) Å, $b = 4,9767$ (13) Å, $c = 17,787$ (5) Å, $\beta = 101,967$ (4)°, Vol = 2246,3 (10) Å 3 , Z = 4, T = -100.°C, Peso de fórmula = 473,96, Densidad = 1,401g/cm 3 , μ (Mo) = 0,21 mm $^{-1}$

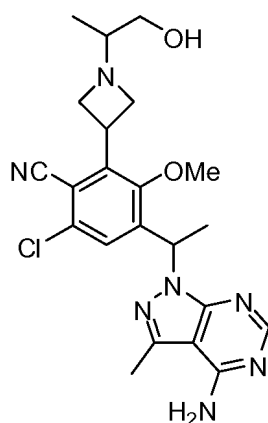
55 [0412] RECOPIACIÓN DE DATOS: Sistema Bruker SMART APEX-II CCD, radiación MoK α , tubo de enfoque estándar, potencia del ánodo = 50kV x 42 mA, distancia de cristal a placa = 5,0 cm, 512 x 512 píxeles/cuadro, centro del haz = (256,13, 253,14), cuadros totales = 704, oscilación/cuadro = 0,50°, exposición/cuadro = 120,1 sec/frame, integración SAINT, hkl min/max = (-27, 34, -6, 6, -23, 11), entrada de datos a shelx = 7578, datos únicos = 5186, rango de dos theta = 3,20 a 56,74°, completitud a dos-theta 56,74 = 99,70%, R (int- σ) = 0,0331, corrección SADABS aplicada.

60 [0413] SOLUCIÓN Y REFINAMIENTO: Estructura resuelta usando XS (Shelxtl), refinada usando el paquete de software shelxtl, refinamiento por mínimos cuadrados de matriz completa en F^2 , factores de dispersión de Int. Tab. Vol. C Tablas 4,2,6,8 y 6,1,1,4, número de datos = 5186, número de restricciones = 2, número de parámetros = 313, relación datos/parámetros = 16,57, precisión de ajuste en $F^2 = 1,02$, índices $R[>4\sigma(I)]$ $R_1 = 0,0524$, $wR_2 = 0,1033$, índices R (todos los datos) $R_1 = 0,0826$, $wR_2 = 0,1162$, diferencia máxima pico y agujero = 0,294 y -0,221 e/Å 3 , parámetro refinado de flack = 0,05 (8), Todos los átomos de hidrógeno, excepto el NH $_2$ y los hidrógenos de agua, se han idealizado utilizando un modelo de conducción.

[0414] RESULTADOS: La unidad asimétrica contiene una molécula y una molécula de agua como se muestra en la figura 1 con elipsoides térmicos aproximados al nivel de probabilidad del 50%. La estructura prevista se confirma. La configuración absoluta se determina en base a la configuración S conocida en C21. Se determina que la configuración en C7 es S. El parámetro flack también confirma la configuración correcta. En base a la estructura cristalina, se cree que el compuesto del Ejemplo 269 es 4-((S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-((S)-2-hidroxi-propilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo. La estructura cristalina se muestra en la FIG. 1.

Ejemplos 272 y 273. Diastereoisómeros de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-2-[1-(2-hidroxi-1-metiletilo)acetidina-3-ilo]-3-metoxibenzonitrilo

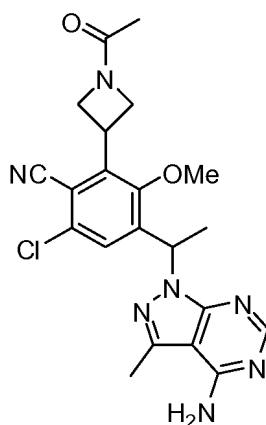
[0415]



[0416] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (40 mg, 0,10 mmol) en metanol (2ml) se trató con cianoborohidruro de sodio (16 mg, 0,25 mmol) seguido de acetol (28 μ L, 0,40 mmol) y agitado a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético (100 μ l, 1,8 mmol), se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 mL/min) para dar los productos deseados como una mezcla de diastereoisómeros. Esta mezcla de diastereoisómeros se separó por HPLC quiral (TA = 3,70 min y 6,58 min; columna Phenomenex Lux Cellulose C-4, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 20% en hexanos a 18 ml/min, 5 mg/inj) para dar el isómero Pico 1 deseado (compuesto 272) (19 mg, 41%) y el pico 2 isómero (compuesto 273) (23 mg, 50%) Pico 1: ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,34 (br s, 2H), 6,24 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,43 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,07 - 3,82 (m, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,31 - 3,24 (m, 1H), 3,17 - 3,06 (m, 2H), 3,06 - 2,97 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,21 - 2,11 (m, 1H), 1,72 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 0,81 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z = 456,2; Encontrado: 456,2. Pico 2: ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,35 (br s, 2H), 6,24 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 4,43 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 4,06 - 3,91 (m, 2H), 3,89 - 3,79 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,30 - 3,24 (m, 1H), 3,15 - 3,00 (m, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,21 - 2,10 (m, 1H), 1,72 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 0,82 (d, J = 6,2 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z = 456,2; Encontrado: 456,2.

Ejemplo 281. 2-(1-acetilacetidina-3-ilo)-4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo

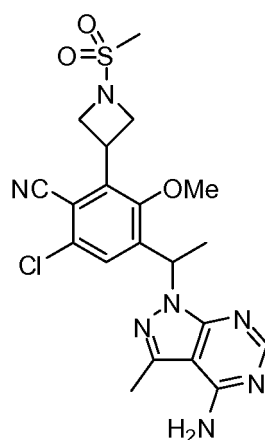
[0417]



[0418] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (Intermedio quirál del Ejemplo 261) (60 mg, 0,15 mmol) en tetrahidrofurano (2ml) a 0°C se trató con trietilamina (53 µL, 0,38 mmol) seguido de cloruro de acetilo (13 µL, 0,18 mmol) y se agitó a 20°C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (39 mg, 59 %). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,36 (br s, 2H), 6,26 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,57 -4,36 (m, 3H), 4,30 -4,21 (m, 1H), 4,18 -4,08 (m, 1H), 3,71 (d, *J* = 3,1 Hz, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,78 - 1,71 (m, 6 H). LCMS para C₂₁H₂₃ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 440,2; Encontrado: 440,1.

Ejemplo 285. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-metoxi-2-[1-(metilsulfonilo)acetidina-3-ilo]benzonitrilo

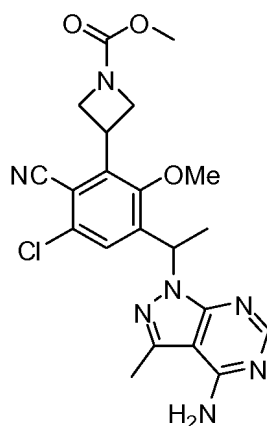
[0419]



[0420] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (Intermedio quirál del Ejemplo 261) (40 mg, 0,10 mmol) en diclorometano (1 ml) se trató con trietilamina (35 µL, 0,25 mmol), se enfrió a 0°C, se trató con cloruro de metanosulfonilo (9,3 µL, 0,12 mmol) y se agitó a 0°C durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (20 mg, 42 %). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,35 (br s, 2H), 6,25 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,54 -4,40 (m, 1H), 4,27 -4,12 (m, 4H), 3,68 (s, 3H), 3,01 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,74 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LCMS para C₂₀H₂₃ClN₇O₃S (M+H)⁺: m/z = 476,1; Encontrado: 476,1.

Ejemplo 289. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de metilo

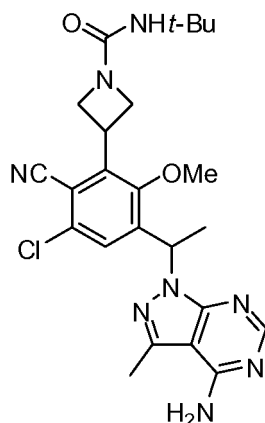
[0421]



[0422] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzoitrilo (Intermedio quirral del Ejemplo 261) (20 mg, 0,05 mmol) en diclorometano (1 ml) se trató con trietilamina (20 μ L, 0,14 mmol) seguido de cloroformiato de metilo (4,7 μ L, 0,06 mmol) y agitado a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (12 mg, 52 %). El producto se aisló como un enantiómero único. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,34 (br s, 2H), 6,25 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 4,53 -4,38 (m, 1H), 4,36 -4,17 (m, 4H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,73 (d, J = 7,1 Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_7\text{O}_3$ (M+H) $^+$: m/z = 456,2; Encontrado: 456,1.

Ejemplo 292. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}-*N*-(*terc*-butilo)acetidina-1-carboxamida

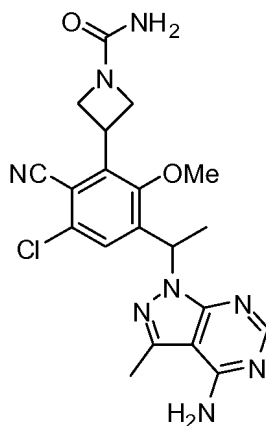
[0423]



[0424] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzoitrilo (Intermedio quirral del Ejemplo 261) (20 mg, 0,05 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (1 ml) se trató con trietilamina (20 μ L, 0,14 mmol) seguido de 2-isocianato-2-metilpropano (7,2 μ L, 0,063 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. temperatura durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (16 mg, 64 %). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{ClN}_8\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z = 497,2; Encontrado: 497,2.

Ejemplo 293. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}acetidina-1-carboxamida

[0425]

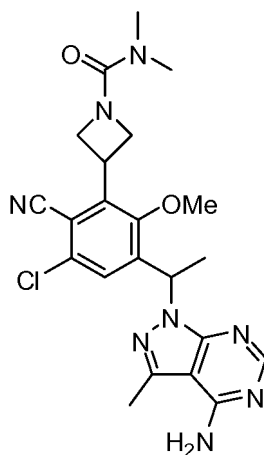


[0426] Una solución de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}-*N*-(*terc*-butilo)acetidina-1-carboxamida (Intermedio quirral del Ejemplo 292) (16 mg, 0,032 mmol) en ácido trifluoroacético (2ml) fue calentado en el microondas a 120°C durante 10 min. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de

acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (7 mg, 50 %). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,35 (br s, 2H), 6,28 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,70 (br s, 1H), 4,62-4,49 (m, 1H), 4,34-4,20 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,78 - 3,49 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 1,73 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS para C₂₀H₂₂ClN₈O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 441,2; Encontrado: 441,1.

Ejemplo 296. 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-metoxifenilo}-N,N-dimetilacetidina-1-carboxamida

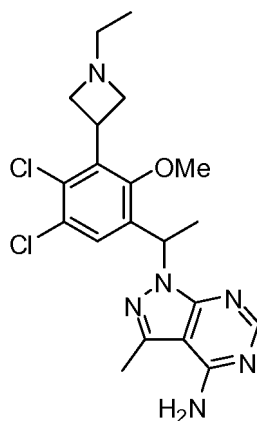
[0427]



[0428] Una solución de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-metoxibenzoitrilo (Intermedio quiral del Ejemplo 261) (40 mg, 0,10 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2ml) se trató con trietilamina (40 μ L, 0,29 mmol) seguido de cloroformiato de *p*-nitrofenilo (23 μ L, 0,13 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado que se usó inmediatamente. Una solución del Intermedio de *p*-nitrofenilo carbamato en tetrahidrofurano (1 ml) se trató con trietilamina (15 μ L, 0,11 mmol) seguido de una solución de dimetilamina 1,0 M en tetrahidrofurano (150 μ L, 0,15 mmol) y se calentó en un recipiente sellado. tubo a 60°C durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el producto deseado (13 mg, 28%). El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,36 (br s, 2H), 6,25 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,44-4,23 (m, 3H), 4,22-4,10 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 2,76 (s, 6H), 2,55 (s, 3H), 1,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LCMS para C₂₂H₂₆ClN₈O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 469,2; Encontrado: 469,1.

Ejemplo 298. 1-{1-[4,5-Dicloro-3-(1-etilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo]etilo}-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

[0429]



Paso 1. 1-(4,5-dicloro-2-hidroxifenilo)etanona

[0430] Una solución de 3,4-diclorofenol [AK Scientific] (30 g, 18 mmol) en cloruro de acetilo (19 mL, 270 mmol) se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, se trató con tricloruro de aluminio (37 g, 280 mmol) en porciones y se calentó a 180°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C y la solución se endureció en un bloque sólido que no fue fácil de romper. Este material se enfrió a 0°C y se inactivó lentamente con 1 M HCl en porciones. El bloque sólido de material se rompió lentamente con suficiente HCl y esta mezcla heterogénea se agitó a 20°C durante la noche para garantizar la uniformidad. El sólido se filtró, se lavó con grandes cantidades de agua y se secó al vacío para dar el producto deseado (38 g, cuantitativo) como un sólido tostado.

Paso 2. 1-(4,5-dicloro-2-hidroxi-3-yodofenilo)etanona

[0431] Una solución de 1-(4,5-dicloro-2-hidroxifenilo)etanona (12 g, 59 mmol) en ácido acético (70 ml) se trató con *N*-yodosuccinimida (16 g, 71 mmol) y se agitó a 90°C durante 18 h. La mezcla de reacción se trató con *N*-yodosuccinimida adicional (8 g, 36 mmol) y se agitó a 90°C durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con acetato de etilo y se inactivó con bicarbonato de sodio saturado hasta que cesó el burbujeo. La capa orgánica se separó y la fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron y se concentraron para dar un sólido marrón. Este material se recristalizó en metanol para dar el producto deseado (9,0 g, 46%) como un sólido de color tostado. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 13,36 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 2,65 (s, 3H). LCMS para C₈H₆Cl₂IO₂ (M+H)⁺: m/z = 330,9, 332,9; Encontrado: 330,8,332,9.

Paso 3. 1-(4,5-dicloro-3-yodo-2-metoxifenilo)etanona

[0432] Una solución de 1-(4,5-dicloro-2-hidroxi-3-yodofenilo)etanona (16 g, 47 mmol) y carbonato de potasio (17 g, 120 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (40 ml) se trató con yoduro de metilo (6,4 ml, 100 mmol) y se agitó a 60°C durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (2x). Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para dar un sólido bruto. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (5% - 30%) para dar el producto deseado (14 g, 84%) como un sólido naranja. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,69 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 2,60 (s, 3H). LCMS para C₉H₆Cl₂IO₂ (M+H)⁺: m/z = 344,9, 346,9; Encontrado: 344,8, 346,9.

Paso 4. 3-(3-acetilo-5,6-dicloro-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0433] El zinc (4,5 g, 69 mmol) se suspendió con 1,2-dibromoetano (420 µL, 4,9 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (54 ml). La mezcla se calentó a 70°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió clorotrimetilsilano (620 µl, 4,9 mmol) gota a gota y se continuó la agitación durante 1 hora. Luego se añadió una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (17 g, 61 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (30 ml) y la mezcla se calentó a 40°C durante 1 h antes de una mezcla de 1-(4,5-dicloro-3-yodo-2-metoxifenilo)etanona (14 g, 41 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (710 mg, 0,77 mmol) y tri-(2-furilo)fosfina (360 mg, 1,6 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (120 ml) se añadió rápidamente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se repartió luego entre acetato de etilo y solución saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica se lavó con agua, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró hasta un residuo bruto que se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0% - 25%) para dar el producto deseado (12 g, 77 %). LCMS para C₁₇H₂₁Cl₂NO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 396,1; Encontrado: 396,0.

Paso 5. 3-[2,3-dicloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0434] Una solución de *tert*-butilo 3-(3-acetilo-5,6-dicloro-2-metoxifenilo)acetidina-1-carboxilato (9,6 g, 26 mmol) en metanol (240 ml) a 0°C se trató con tetrahidroboreto de sodio (1,9 g, 51 mmol) en porciones durante 5 minutos y se agitó a 0°C durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético (7,3 ml, 130 mmol) a 0°C y se trató con solución saturada de bicarbonato de sodio (~50 ml). La mezcla de reacción se concentró para eliminar la mayor parte del metanol (hasta ~ 60 ml), se vertió en una solución saturada de bicarbonato de sodio (150 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar el producto deseado (9,6 g, cuantitativo) que se usó sin purificación adicional. LCMS para C₁₃H₁₆Cl₂NO₄ ([M-(*t*-Bu)+H]⁺)⁺: m/z = 320,0; Encontrado: 320,0.

Paso 6. 3-[2,3-dicloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

[0435] Se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,92 ml, 12 mmol) a cloruro cianúrico sólido (2,2 g, 12 mmol) a temperatura ambiente (DMF es absorbido por el sólido). La mezcla se dejó reposar durante 10 minutos, se trató con cloruro de metileno (60 ml) y se agitó durante unos minutos para romper el sólido. La mezcla de reacción se trató con una solución de 3-[2,3-dicloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (3,0 g, 8,0 mmol) en cloruro de metileno (30 mL) y se agitó a 35 - 40°C durante 2 h. La mezcla de reacción se trató con *N,N*-dimetilformamida adicional (1 ml) y se agitó a 35 - 40°C durante 4 h. La reacción requirió otro tratamiento de *N,N*-dimetilformamida (1 ml) con agitación a 35-40°C durante la noche para proceder a su finalización. La mezcla de reacción se diluyó con agua y diclorometano. La fase orgánica se separó y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio, agua y salmuera,

se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró hasta un residuo bruto. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (5% - 40%) para dar el producto deseado (2,8 g, 90%). LCMS para $C_{13}H_{15}Cl_3NO_3$ ($[M-(t-Bu)+H]^+$): $m/z = 338,0, 340,0$; Encontrado: 337,9, 339,9.

5 **Paso 7.** 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina-1-ilo)etilo]-5,6-dicloro-2-metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

10 **[0436]** Una solución de 3-[2,3-dicloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxifenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 2,5 mmol) y 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,43 g, 2,9 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (23 ml) se trató con carbonato de cesio (1,2 g, 3,8 mmol) y yoduro de potasio (42 mg, 0,25 mmol) y calentado a 100°C durante 10 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (75 ml) y agua (75 ml). La capa acuosa se separó y se volvió a extraer con acetato de etilo (2x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron hasta un residuo bruto. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando metanol en diclorometano (0% - 10%) para dar el producto deseado (0,97 g, 75%). LCMS para $C_{23}H_{29}Cl_2N_6O_3$ ($M+H$): $m/z = 507,2, 509,2$; Encontrado: 507,0, 509,0.

Paso 8. 1-[1-(3-Acetidina-3-ilo-4,5-dicloro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

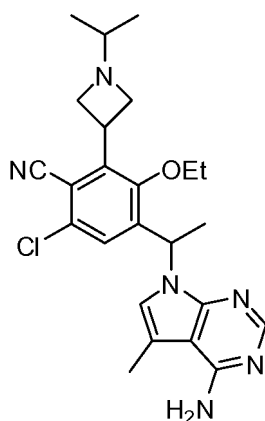
20 **[0437]** Una solución de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[4,3-c]piridina-1-ilo)etilo]-5,6-dicloro-2-metoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,97 g, 1,9 mmol) en cloruro de metileno (20 ml) se trató con ácido trifluoroacético (10 ml) y se agitó a 20°C durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se diluyó con metanol (~20 ml) y se trató con solución saturada de bicarbonato sódico (a pH ~ 8). La mezcla de reacción se concentró para eliminar el metanol. El aceite que se suspendió en la capa acuosa se extrajo en una mezcla 5:1 de diclorometano/isopropanol, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el producto deseado (0,77 g, 99%) que se usó en el siguiente paso. sin más purificación. LCMS para $C_{18}H_{21}Cl_2N_6O$ ($M+H$): $m/z = 407,1, 409,1$; Encontrado: 407,0, 409,0.

30 **Paso 9.** 1-[1-(4,5-Dicloro-3-(1-etilacetidina-3-ilo)-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

35 **[0438]** Una solución de 1-[1-(3-acetidina-3-ilo-4,5-dicloro-2-metoxifenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (40 mg, 0,098 mmol) en metanol (2,6 mL) se trató con cianoborohidruro de sodio (15 mg, 0,25 mmol) seguido de acetaldehído (22 μ L, 0,39 mmol) y se agitó a 20°C durante 20 min. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético (130 μ L, 2,3 mmol), se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 mL/min) para dar el producto deseado como una mezcla de enantiómeros. Esta mezcla racémica se separó por HPLC quiral (TA = 18,6 min y 22,0 min; columna Phenomenex Lux Cellulose C-4, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 5% en hexanos a 18 ml/min, 2,5 mg/inj) para dar el isómero Pico 1 deseado (11 mg, 26%). 1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,33 (br s, 2H), 6,21 (q, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,98 - 3,77 (m, 3H), 3,57 (s, 3H), 2,92 - 2,83 (m, 1H), 2,79 - 2,72 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,35 - 2,22 (m, 2H), 1,70 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,86 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). LCMS para $C_{20}H_{25}Cl_2N_6O$ ($M+H$): $m/z = 435,1$; Encontrado: 435,0.

45 **Ejemplo 307.** 4-[1-(4-Amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(1-isopropilacetidina-3-ilo)benzonitrilo

[0439]



Paso 1. 3-{3-[1-(4-amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

[0440] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 212, Paso 5 (Intermedio quiral), usando 5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-amina [ACES Pharma] en lugar de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina como material de partida con un rendimiento del 18%. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8,13 (s, 1H), 6,93 (br s, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,17 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 5,24 (s, 2H), 4,40-4,27 (m, 4H), 4,27-4,18 (m, 1H), 4,03 - 3,92 (m, 1H), 3,80 - 3,70 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 1,74 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H). LCMS para C₂₆H₃₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 511,2; Encontrado: 511,2.

Paso 2. 4-[1-(4-Amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo

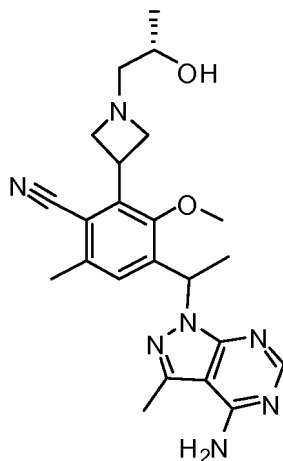
[0441] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 212, Paso 6, usando *tert*-butilo 3-{3-[1-(4-amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxi-fenilo}acetidina-1-carboxilato de metilo en lugar de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo}acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo como material de partida con un rendimiento del 99%. LCMS para C₂₁H₂₄ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 411,2; Encontrado: 411,1.

Paso 3. 4-[1-(4-Amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(1-isopropilacetidina-3-ilo)benzonitrilo

[0442] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 213 usando 4-[1-(4-amino-5-metilo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo en lugar de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo y acetona en lugar de formaldehído como materiales de partida con un rendimiento del 65%. El producto se aisló como un enantiómero único. ¹H RMN (300 MHz, DMSO) δ 7,95 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,16-7,13 (m, 1H), 6,58 (s, 2H), 6,11 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 4,04-3,67 (m, 5H), 3,04-2,92 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,27-2,12 (m, 1H), 1,69 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,30 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 0,85 (dd, J = 6,1,1,8 Hz, 6H). LCMS para C₂₄H₃₀ClN₆O (M+H)⁺: m/z = 453,2; Encontrado: 453,3.

Ejemplo 315. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-{1-[(2S)-2-hidroxi-propilo]acetidina-3-ilo}-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo

[0443]



Paso 1: 4-acetilo-5-hidroxi-2-metilbenzonitrilo

[0444] El 1-(4-bromo-2-hidroxi-5-metilfenilo)etanon (8,5 g, 37 mmol, Alfa Aesar catálogo n° H29125) se combinó con cianuro de zinc (8,7 g, 74 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (75 ml) desgasificada con nitrógeno y el tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (1,0 g, 1,1 mmol) y (9,9-dimetilo-9H-xanteno-4,5-diilo)bis(difenilfosfina) (1,5 g, 2,6 mmol) se añadieron. La reacción se desgasificó nuevamente con nitrógeno y se calentó a 120°C y se controló por LC/MS. Después de calentar durante 18 h, la reacción se completó, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua (2X), salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el producto crudo como un producto oscuro. aceite ámbar El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo con gradiente de hexano: acetato de etilo para dar 4-acetilo-5-hidroxi-2-metilbenzonitrilo como un sólido (6,3 g, 98%). LCMS calculada para C₁₀H₁₀NO₂ (M+H)⁺: m/z = 176,1; encontrado: 176,2.

Paso 2: 4-acetilo-3-hidroxi-2-yodo-6-metilbenzonitrilo

[0445] El 4-acetilo-5-hidroxi-2-metilbenzonitrilo (6,7 g, 38 mmol) se disolvió en ácido acético (80 ml) y se añadió *N*-iodosuccinimida (10 g, 46 mmol). La reacción se calentó a 80°C en un baño de aceite y se controló por LC/MS. Después de calentar durante 4 horas, la reacción se completó. Esto se dejó enfriar y se concentró al vacío para dar

un aceite oscuro. El aceite se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua, bicarbonato de sodio (3x, hasta que permaneció ligeramente básico), salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró hasta dar el producto crudo como un aceite oscuro. El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo hexano: gradiente de acetato de etilo para dar 4-acetilo-3-hidroxi-2-yodo-6-metilbenzonitrilo como un sólido amarillo pálido (7,2 g, 62%).

5 LCMS calculada para $C_{10}H_9NO_2$ (M+H)⁺: m/z = 301,9; encontrado: 301,9.

Paso 3: 4-acetilo-2-yodo-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo

10 **[0446]** El 4-acetilo-3-hidroxi-2-yodo-6-metilbenzonitrilo (5,0 g, 17 mmol) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (50 ml) y se agregaron carbonato de potasio (4,6 g, 33 mmol) y yoduro de metilo (2,1 ml, 33 mmol). La reacción se calentó a 60°C y se controló por LC/MS. Después de calentar durante 2 horas, la reacción se completó. Esto se dejó enfriar, se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se filtró para eliminar los sólidos restantes. La capa orgánica se lavó con agua (3X), salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el producto bruto como un sólido oscuro.

15 El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo con gradiente de hexano: acetato de etilo para dar 4-acetilo-3-metoxi-2-yodo-6-metilbenzonitrilo como un sólido cristalino amarillo pálido (5,0 g, 96%). LCMS calculada para $C_{11}H_{11}INO_2$ (M+H)⁺: m/z = 315,9; encontrado: 316,0.

Paso 4: 3-(3-acetilo-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo)acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

20 **[0447]** Cinc (1,70 g, 26,0 mmol) y celita (horno seco, 500 mg) se molieron juntos en un matraz hasta que los sólidos parecieran homogéneos, el matraz se calentó con una pistola de calor mientras estaba a alto vacío durante 5 minutos y luego se volvió a llenar con nitrógeno. Los sólidos se suspendieron en *N,N*-dimetilacetamida (4,2 ml) y se añadió 1,2-dibromoetano (0,13 ml, 1,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 30 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió clorotrimetilsilano (0,16 ml, 1,3 mmol) gota a gota y se continuó la agitación durante

25 2 horas a temperatura ambiente. Luego se añadió lentamente una solución de 3-yodoacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,70 g, 9,52 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (4,35 ml) y la mezcla resultante se calentó a 50°C durante 2 horas. El reactivo de yodo de zinc se dejó enfriar a temperatura ambiente y se recogió en una jeringa y se filtró a través de un filtro de PTFE (adaptado con una aguja) directamente en una suspensión de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0)

30 (0,111 g, 0,121 mmol) y tri-(2-furilo)fosfina (0,056 g, 0,24 mmol) y 4-acetilo-2-yodo-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo (2,0 g, 6,3 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (19,6 mL) desgasificado previamente burbujeando N_2 . La mezcla de reacción se desgasificó nuevamente con nitrógeno y se calentó a 70°C. Después de calentar durante 30 minutos, la reacción se completó por LC/MS. Esto se dejó enfriar, se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el producto bruto como un aceite. El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo con hexano; gradiente de acetato de etilo para dar 3-(3-acetilo-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo)acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo como un aceite transparente. (1,8 g, 82%). LCMS calculada para $C_{15}H_{17}N_2O_4$ (M+H)⁺: m/z = 289,1; encontrado: 289,1.

Paso 5: 3-[2-ciano-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-3-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

40 **[0448]** El 3-(3-acetilo-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo)acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,2 g, 6,4 mmol) se disolvió en metanol (20 ml) y se enfrió en baño de hielo. El tetrahidroborato de sodio (0,26 g, 7,0 mmol) se añadió en porciones y la reacción se controló por LC/MS. Después de agitar durante 1 h, la reacción se completó. Esto se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa orgánica combinada se lavó con agua, bicarbonato de sodio saturado, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar 3-[2-ciano-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-3-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo como una espuma amarilla (2,1 g, 99%). LCMS calculada para $C_{15}H_{19}N_2O_4$ (M+H)⁺: m/z = 291,1; encontrado: 291,1.

Paso 6: 3-[3-(1-cloroetilo)-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

50 **[0449]** El 3-[2-ciano-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-3-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,1 g, 6,4 mmol) se recogió en cloruro de metileno (50,0 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,59 ml), se enfrió en un baño de hielo y se añadió lentamente cloruro de tionilo (0,56 ml, 7,7 mmol). Después de agitar durante 2 horas, la reacción se completó por LC/MS y se repartió entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica combinada se lavó con bicarbonato de sodio saturado con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar 3-[3-(1-cloroetilo)-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo bruto como un aceite (2,2 g, 100%). LCMS calculada para $C_{15}H_{18}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 309,1; encontrado: 309,1.

Paso 7: 3-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de terc-butilo

60 **[0450]** El 3-[3-(1-cloroetilo)-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo]acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,3 g, 6,3 mmol) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (68 ml) con carbonato de cesio (4,1 g, 13 mmol) y 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (1,4 g, 9,4 mmol) y se calentó en un baño de aceite a 80°C. La reacción se agitó durante 18 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se recogió en acetato de etilo, se filtró, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el producto bruto. El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo un gradiente (hexano: etanol al 10% acetato de etilo) para dar 3-[3-[1-(4-amino-

65

3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo como un semisólido (1,5 g, 50%). LCMS calculada para C₂₅H₃₂N₇O₃ (M+H)⁺: m/z = 478,2; encontrado: 478,2. Los enantiómeros se separaron por HPLC en columna quiral usando: Columna de Phenomenex LUX Cellulose, 21,1 x 250 mm, 5 micras, etanol al 15% en hexano, 18 ml/min ~ 5 mg/inyección para dar: primer tiempo de retención máximo: 2,1 minutos, 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo; segundo tiempo de retención máximo: 3,9 minutos, 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo.

Paso 8: 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo bis(trifluoroacetato)

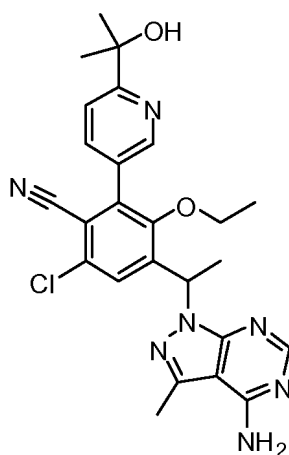
[0451] El 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-ciano-2-metoxi-5-metilfenilo}acetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,35 g, 0,73 mmol) (Paso 7, Pico 1) en cloruro de metileno (3,0 ml) y ácido trifluoroacético (1,0 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 h, la reacción se completó por LC/MS. La reacción se concentró al vacío para dar 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo (bis(trifluoroacetato) como un aceite viscoso de color ámbar (0,50 g, 100%) LCMS calculada para C₂₀H₂₄N₇O (M+H)⁺: m/z = 378,2; encontrado: 378,2.

Paso 9: 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-{1-[(2S)-2-hidroxi-propil]acetidina-3-ilo}-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo

[0452] El 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-metoxi-6-metilbenzonitrilo bis(trifluoroacetato) (0,074 g, 0,10 mmol) se disolvió en etanol (3,0 mL) y DIPEA (0,071 mL, 0,41 mmol) y el (S)-(-)-metiloxirano (0,0071 g, 0,12 mmol) se añadió. La reacción se calentó en un tubo sellado a 90°C y se controló por LC/MS. Después de calentar durante 6 horas, la reacción se purificó sin tratamiento previo por HPLC preparativa. en una columna C-18 eluyendo agua: gradiente de acetonitrilo tamponado pH 10 para dar el compuesto del título como un amorfo blanco sólido estadounidense (0,018 g, 40%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para C₂₃H₃₀N₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 436,2; encontrado: 436,3. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,09 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 6,22 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 4,34 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 4,09-3,83 (m, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,58-3,51 (m, 1H), 3,12-2,95 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,27 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 1,71 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,00 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

Ejemplo 316. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[6-(1-hidroxi-1-metiletilo)piridina-3-ilo]benzonitrilo

[0453]



Paso 1. 5-bromo-N-metoxi-N-metilpiridina-2-carboxamida

[0454] N,O-clorhidrato de dimetilhidroxilamina (500 mg, 5 mmol) se añadió a una mezcla de N,N,N',N'-tetrametilo-O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)hexafluorofosfato de uronio (1400 mg, 3,7 mmol), N,N-diisopropiletilamina (1000 µl, 7 mmol) y 5-bromopiridina-2-ácido carboxílico (500 mg, 2 mmol, catálogo de Frontier Scientific n° B1704) en N,N-dimetilformamida (10 mL). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y se completó por LC/MS. La reacción se repartió entre agua y EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar el producto crudo. El producto se purificó mediante FCC sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de hexano: EtOAc (0-30%) para dar un aceite transparente de 5-bromo-N-metoxi-N-metilpiridina-2-carboxamida (0,50 g, 60%). LCMS calculada para C₈H₁₀BrN₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 244,9, 246,9; encontrado: 244,9, 246,9.

Paso 2. 1-(5-bromopiridina-2-ilo)etanona

[0455] Gota a gota se añadió cloruro de metilmagnesio 3,0 M en THF (0,5 ml) a una mezcla de 5-bromo-*N*-metoxi-*N*-metilpiridina-2-carboxamida (200 mg, 0,8 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) a 0°C. Después de agitar durante 1 h a temperatura ambiente, la reacción se inactivó con 1 N NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, se concentró para dar el producto bruto 1-(5-bromopiridina-2-ilo)etanona (0,15 g, 90%). LCMS calculado para C₇H₇BrNO (M+H)⁺: m/z = 199,9, 201,9; encontrado: 199,9, 201,9.

Paso 3. 2-(5-bromopiridina-2-ilo)propano-2-ol

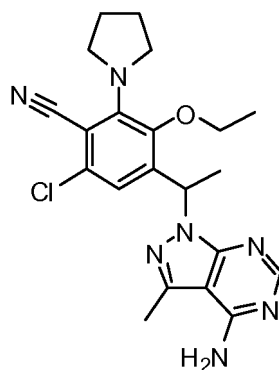
[0456] Se añadió gota a gota cloruro de metilmagnesio 3,0 M en THF (0,3 mL) a una mezcla de 1-(5-bromopiridina-2-ilo)etanona (100 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) a 0°C. Después de agitar durante 1 h a temperatura ambiente, la reacción se inactivó con 1 N NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, se concentró para dar cloruro de 2-(5-bromopiridina-2-ilo)propano-2-ol (0,1 g, 100%). LCMS calculada para C₈H₁₁BrNO (M+H)⁺: m/z = 215,9, 217,9; encontrado: 215,8, 217,8.

Paso 4. [6-(1-hidroxi-1-metiletilo)piridina-3-ilo]ácido borónico

[0457] Una mezcla de 2-(5-bromopiridina-2-ilo)propano-2-ol (70 mg, 0,3 mmol), 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametil-[2,2']bi[[1,3,2]dioxaborolanilo] (90 mg, 0,36 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (10 mg, 0,01 mmol) y acetato de potasio (100 mg, 1 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) se calentó a 120°C durante la noche. La reacción se completó por LC/MS, se concentró al vacío para dar ácido [6-(1-hidroxi-1-metiletilo)piridina-3-ilo]ácido borónico en bruto. LCMS calculada para C₈H₁₃BNO₃ (M+H)⁺: m/z = 182,1; encontrado: 182,1.

Paso 5. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-[6-(1-hidroxi-1-metiletilo)piridina-3-ilo]benzonitrilo bis(2,2,2-trifluoroacetato)

[0458] Se añadió carbonato de sodio (10 mg, 0,09 mmol) en agua (0,5 ml) a una mezcla de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-bromo-6-cloro-3-etoxibenzonitrilo (20 mg, 0,04 mmol, Intermedio racémico del Ejemplo 43, Paso 5) y [6-(1-hidroxi-1-metiletilo)piridina-3-ilo]ácido borónico (12 mg, 0,069 mmol, Ejemplo 306, Paso 4) en acetonitrilo (1 ml). La mezcla de reacción se desgasificó con N₂ y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) se añadió (2mg, 0,002 mmol). La reacción se desgasificó con N₂ de nuevo y se calentó a 100°C durante 1 h. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se purificó sin tratamiento previo mediante HPLC preparativa en una columna C-18 eluyendo con agua; gradiente de acetonitrilo tamponado con TFA para dar el compuesto del título como un sólido amorfo blanco. El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₅H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 492,1; encontrado: 492,1. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,60 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,96 (dd, *J* = 8,2,2,3 Hz, 1H), 7,80 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 6,36 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,52-3,40 (m, 1H), 3,40-3,30 (m, 1H), 2,59 (s, 3H), 1,80 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,48 (d, *J* = 2,3 Hz, 6H), 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 318. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo**[0459]****Paso 1. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo**

[0460] El 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo se preparó por métodos análogos descritos en el Ejemplo 43, Paso 1 y Paso 2, pero usando *N*-yodosuccinimida. LCMS calculada para C₁₁H₁₀ClINO₂ (M+H)⁺: m/z = 349,9; encontrado: 350,0

Paso 2. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo

[0461] El 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo (0,20 g, 0,57 mmol) se combinó con pirrolidina (0,052 ml, 0,63 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2,0 ml) con carbonato de cesio (0,19 g, 0,57 mmol) y se calentó a 120°C en un tubo sellado. Después de calentar durante 18 horas, la reacción se dejó enfriar, se recogió en acetato de etilo, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el producto crudo como un aceite oscuro. El producto se purificó por FCC sobre gel de sílice eluyendo con hexano: gradiente de acetato de etilo para dar 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo como un aceite (0,045 g, 27%). LCMS calculada para $C_{15}H_{18}ClN_2O_2$ (M+H)⁺: m/z = 293,1; encontrado 293,1.

Paso 3. 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo

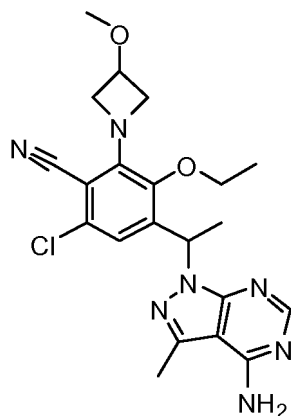
[0462] El 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo (0,045 g, 0,15 mmol) se disolvió en metanol (3 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió el tetrahidroborato de sodio (0,0058 g, 0,15 mmol) y la reacción se controló por LC/MS. Después de agitar durante 1 h, la reacción se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua, bicarbonato de sodio, salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio para dar 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo en bruto como un aceite transparente (0,045 g, 100%). LCMS calculada para $C_{15}H_{20}ClN_2O_2$ (M+H)⁺: m/z = 295,1; encontrado 295,1.

Paso 4. 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo

[0463] El 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo (0,045 g, 0,15 mmol) se recogió en cloruro de metileno (3,0 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,002 ml, 0,03 mmol) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió cloruro de tionilo (0,017 ml, 0,23 mmol) y la reacción se controló por LC/MS. Después de agitar durante 2 horas, la reacción se completó. La reacción se recogió en acetato de etilo, se lavó con bicarbonato de sodio, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo en bruto como un aceite amarillo (0,048 g, 100%). LCMS calculada para $C_{15}H_{19}Cl_2N_2O$ (M+H)⁺: m/z = 313,1; encontrado 313,1.

Paso 5. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo

[0464] El 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-pirrolidina-1-ilbenzonitrilo (0,048 g, 0,15 mmol, mezcla racémica) se combinó con 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amino (0,034 g, 0,23 mmol) y carbonato de cesio (0,10 g, 0,31 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (3,0 mL) y se calentó en un baño de aceite a 85°C. Después de calentar durante 18 horas, la reacción se completó. La reacción cruda se purificó sin tratamiento por HPLC preparativa en una columna C-18 eluyendo agua: gradiente de acetonitrilo tamponado pH 10 para dar el compuesto del título como un sólido amorfo blanco (0,012 g, 18%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{21}H_{25}ClN_7O$ (M+H)⁺: m/z = 426,1; encontrado 426,1. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,25 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 3,71 (dp, *J* = 15,7, 8,1, 7,2 Hz, 4H), 3,49-3,35 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,00-1,76 (m, 4H), 1,70 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,34 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 319. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo**[0465]****Paso 1. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo**

[0466] A una mezcla de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo (50 mg, 0,1 mmol, Ejemplo 318, Paso 1),

clorhidrato de 3-metoxiacetidina (21 mg, 0,17 mmol Chem-Implex catálogo nº 20140) y se añadió carbonato de cesio (70. mg, 0,21 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) (9,9-dimetilo-9H-xanteno-4,5-diilo)bis(difenilfosfina) (40 mg, 0,07 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (60 mg, 0,07 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con N₂. La reacción se calentó a 80°C durante 2 horas y se controló por LC/MS. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar el producto bruto. El producto se purificó por FCC en gradiente de elución de gel de sílice (hexanos: EtOAc 0-70%) para dar 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo como aceite transparente (0,030 g, 70%). LCMS calculada para C₁₅H₁₈ClN₂O₃ (M+H)⁺: m/z = 309,1; encontrado: 309,1.

Paso 2. 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo

[0467] 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo (30 mg, 0,1 mmol) se disolvió en metanol (5 ml) se enfrió a 0°C y se añadió tetrahidrobórato de sodio (5,5 mg, 0,14 mmol). La reacción se agitó durante 1 hora a 0°C. La reacción se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica combinada se lavó con agua y bicarbonato sódico saturado, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar bruto 6-cloro-3-etoxi-4-(1 hidroxietilo)-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo (0,030 g, 100%) LCMS calculada para C₁₅H₂₀ClN₂O₃ (M+H)⁺: m/z = 311,1; conocer: 311,1

Paso 3. 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo

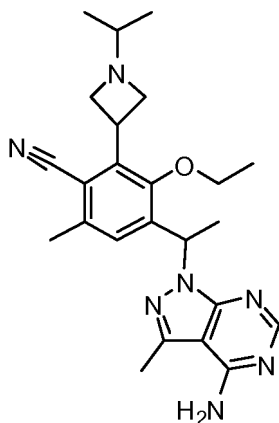
[0468] 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo (30 mg, 0,1 mmol) (mezcla racémica) se disolvió en cloruro de metileno (5 ml) y *N,N*-dimetilformamida (100 µl, 1 mmol). cloruro (18 µl, 0,24 mmol) se añadió gota a gota a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante 2 h. La reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y NaHCO₃, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar el 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo crudo (0,030 g, 100%). LCMS calculada para C₁₅H₁₉Cl₂N₂O₃ (M+H)⁺: m/z = 329,1; encontrado: 329,1.

Paso 4. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo

[0469] Se añadió carbonato de cesio (50 mg, 0,2 mmol) a una mezcla de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (16 mg, 0,10 mmol) y 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-(3-metoxiacetidina-1-ilo)benzonitrilo (30 mg, 0,09 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 40 mmol) y La reacción se agitó a 80°C durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró el producto crudo. El producto se purificó por HPLC preparativa en una columna C-18 eluyendo con agua: gradiente de acetonitrilo tamponado pH 10 para dar el título compuesto como un sólido amorfo blanco (0,007 g, 20%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para C₂₁H₂₅ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 442,1; encontrado: 442,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,18 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,58-4,44 (m, 2H), 4,18 (m, 1H), 4,13-4,01 (m, 2H), 3,81-3,62 (m, 2H), 3,23 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,69 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,35 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 320. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-3-etoxi-2-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-6-metilbenzonitrilo

[0470]



Paso 1: 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-etoxi-6-metilbenzonitrilo bis(trifluoroacetato)

[0471] Usando procedimientos descritos en el Ejemplo 315 pero utilizando yoduro de etilo en el Paso 3, en lugar de

yoduro de metilo, se preparó el intermedio 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-etoxi-6-metilbenzonitrilo bis(trifluoroacetato). LCMS calculada para $C_{21}H_{26}N_7O$ (M+H)⁺: m/z = 392,2; encontrado: 392,2.

5 **Paso 2.** 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-3-etoxi-2-(1-isopropilacetidina-3-ilo)-6-metilbenzonitrilo

10 **[0472]** A una mezcla de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-etoxi-6-metilbenzonitrilo (70 mg, 0,2 mmol) en metanol (50 ml) se añadió acetona (0,1 ml, 2 mmol) y cianoborohidruro de sodio (17 mg, 0,27 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, y se completó por LC/MS. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar el producto crudo. El producto se purificó por HPLC prep. En una columna C-18 eluyendo agua: gradiente de acetonitrilo tamponado pH 10 para dar el compuesto del título como un sólido amorfo blanco (0,030 g, 40%). El producto se aisló como una mezcla racémica. LCMS calculada para $C_{24}H_{32}N_7O$ (M+H)⁺: m/z = 434,2; encontrado: 434,3. ¹H RMN (300 MHz, CD₃ OD) δ 8,17 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,37 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 4,17-3,98 (m, 4H), 3,90-3,71 (m, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,46 (s, 4H), 1,84 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,42 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,03 (dd, J = 6,2, 1,4 Hz, 6H).

20 **Ejemplo 321.** 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxi-2-metilpropilo)acetidina-3-ilo]-6-metilbenzonitrilo

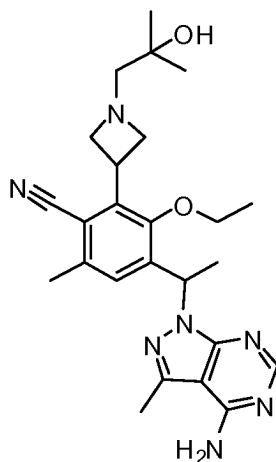
[0473]

25

30

35

40



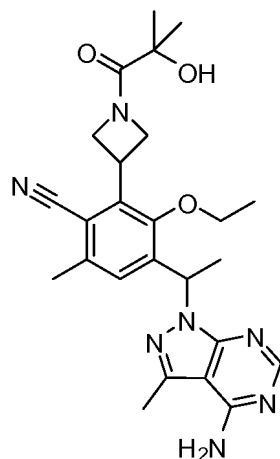
45 **[0474]** El 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-etoxi-6-metilbenzonitrilo (0,055 g, 0,14 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 320, Paso 1) se combinó con tetrahidrofurano (22 ml), DIPEA (0,049 ml, 0,28 mmol) y oxirano, 2,2-dimetilo-(0,018 ml, 0,21 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a 95°C y se dejó agitar durante la noche. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se purificó sin tratamiento previo mediante HPLC preparativa en una columna C-18 eluyendo agua: gradiente de acetonitrilo tamponado pH 10 para dar el compuesto del título como un sólido amorfo blanco (0,035 g, 50%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{25}H_{34}N_7O_2$ (M+H)⁺: m/z = 464,3; encontrado: 464,3. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,09 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,21 (q, J = 6,8 Hz, 1H), 4,00 (m, 4H), 3,81-3,54 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,27 (bs, 2H), 1,70 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,30 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,04 (s, 6H).

55 **Ejemplo 322.** 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-3-etoxi-2-[1-(2-hidroxi-2-metilpropanoilo)acetidina-3-ilo]-6-metilbenzonitrilo

[0475]

60

65



5

10

15

20

25

30

[0476] El 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-2-acetidina-3-ilo-3-etoxi-6-metilbenzonitrilo (0,075 g, 0,10 mmol, Intermedio quiral del Ejemplo 320, Paso 1) se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (3,0 ml) y DIPEA (0,089 ml, 0,51 mmol) y el ácido propanoico, 2-hidroxi-2-metilo-(0,013 g, 0,12 mmol) y *N,N,N',N'*-tetrametilo-*O*-(7-azabenzotriazol-1-ilo)hexafluorofosfato de uronio (0,058 g, 0,15 mmol) se añadió. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se completó por LC/MS. El producto se purificó sin tratamiento previo mediante HPLC preparativa en una columna C-18 eluyendo con agua: gradiente de acetonitrilo tamponado a pH 10 para dar el compuesto del título como un sólido amorfo blanco (0,025 g, 51%). El producto se aisló como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{25}H_{32}N_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 478,2; encontrado: 478,2. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,10 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 6,24 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,90-4,75 (m, 1H), 4,73-4,58 (m, 1H), 4,39 (p, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,30-4,05 (m, 2H), 3,75 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,72 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,35 (t, *J* = 6,1 Hz, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,23 (s, 3H).

Ejemplos 310 y 311. Diastereoisómeros de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}pirrolidina-2-ona

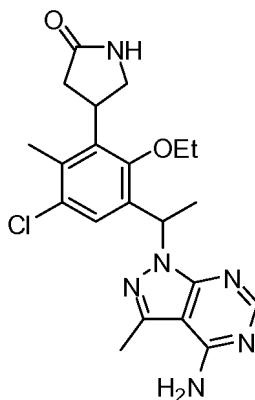
[0477]

35

40

45

50



Paso 1. 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4 metilfenilo)etanol

55

60

[0478] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 212, Paso 4 (mezcla racémica), usando 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanona en lugar de 3-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo)acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo como material de partida con un rendimiento del 94% como una mezcla de enantiómeros 96: 4 (TA = 3,56 min y 4,28 min; columna ChiralPak AD-H de Chiral Technologies, 20 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 5% en hexanos a 1 ml/min). LCMS para $C_{11}H_{13}ClIO$ (M-(OH))⁺: m/z = 323,0; Encontrado: 322,9.

Paso 2. 1-[1-(5-Cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

65

[0479] El compuesto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 212, paso 5, usando 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanol (mezcla 96: 4 del paso 1) en lugar de 3-[3-cloro-2-ciano-6-etoxi-5-(1-hidroxietilo)fenilo]acetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo como material de partida con un rendimiento del 32% como un enantiómero individual (pico 1 deseada, tiempo de retención = 3,39 min; columna ChiralPak IA, 20 x 250 mm, tamaño

de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 3% en hexanos a 18 ml/min). LCMS para $C_{17}H_{20}ClIN_5O$ (M+H)⁺: m/z = 472,0; Encontrado: 472,0.

Paso 3. (2E)-3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acrilato de metilo

[0480] Una suspensión de 1-[1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etilo]-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (pico 1 isómero individual del Paso 2) (0,61 g, 1,3 mmol) en acetonitrilo (7,4 ml) en un tubo sellado se desgasificó con nitrógeno y se trató con trifenilfosfina (0,048 g, 0,18 mmol), acrilato de metilo (0,41 ml, 4,5 mmol) y acetato de paladio (0,029 g, 0,13 mmol) seguido de trietilamina (0,54 ml, 3,9 mmol) y calentado a 100°C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con acetonitrilo. El filtrado se concentró hasta un residuo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo (que contiene 3% de metanol) en hexanos (0%-100%) para dar el producto deseado (0,40 g, 72%). LCMS para $C_{21}H_{25}ClN_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 430,2; Encontrado: 430,2.

Paso 4. Diastereoisómeros de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-4-nitrobutanoato de metilo

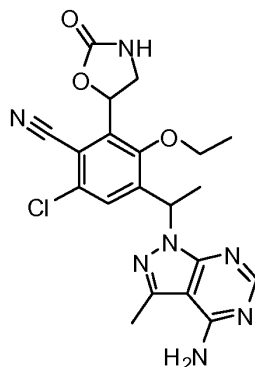
[0481] Una solución de (2E)-3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}acrilato de metilo (0,40 g, 0,93 mmol) en nitrometano (6,3 ml) se trató con 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (0,14 ml, 0,93 mmol) y se agitó a 90°C durante 22 h. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con metanol y se purificó por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo en agua con ácido trifluoroacético al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min). Las fracciones de LCMS se concentraron para eliminar el acetonitrilo, se trataron con bicarbonato de sodio sólido y se extrajeron en acetato de etilo. El acetato de etilo se concentró para dar el producto deseado (0,22 g, 48%) como una mezcla de diastereoisómeros. LCMS para $C_{22}H_{28}ClN_6O_5$ (M+H)⁺: m/z = 491,2; Encontrado: 491,2.

Paso 5. Diastereoisómeros de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}pirrolidina-2-ona

[0482] Una solución de 3-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-metilfenilo}-4-nitrobutanoato de metilo (0,089 g, 0,18 mmol) en metanol (1,3 ml) se trató con cloruro de níquel hexahidrato (0,087 g, 0,36 mmol) se agitó durante 5 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se trató con tetrahidroborato de sodio (0,073 g, 1,9 mmol) en cuatro porciones y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 1,5 h, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con solución saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y diclorometano (25 ml), y se filtró a través de Celite. La Celite se lavó con diclorometano y el filtrado se transfirió a un embudo separador. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta el residuo. El residuo bruto se diluyó con metanol y se purificó mediante LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar el diastereoisómero Pico 1 deseado (16 mg, 21%) y pico 2 diastereoisómero (19 mg, 24%). Pico 1 (compuesto 310): ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,10 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,21 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,38-4,22 (m, 1H), 3,93-3,80 (m, 1H), 3,79-3,67 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 1H), 3,28-3,20 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,29 (dd, *J* = 17,5, 8,3 Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 1,70 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,40 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS para $C_{21}H_{26}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 429,2; Encontrado: 429,2. Pico 2 (compuesto 311): ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,33 (s, 1H), 6,20 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,38-4,22 (m, 1H), 3,90-3,68 (m, 2H), 3,65-3,56 (m, 1H), 3,28-3,17 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,32 (dd, *J* = 17,3, 8,5 Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 1,69 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,39 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS para $C_{21}H_{26}ClN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z = 429,2; Encontrado: 429,2.

Ejemplo 323. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo

[0483]



Paso 1. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-vinilbenzonitrilo

[0484] Una mezcla de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-yodobenzonitrilo (1,3 g, 3,6 mmol), 4,4,5,5-tetrametilo-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (740 μL , 4,3 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (100 mg, 0,20 mmol) y carbonato de potasio (1,5 g, 11 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) y agua (10 ml) se calentó a 80°C durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-20%) dio el compuesto deseado, 780 mg, 87%. LCMS calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClNO}_2$ (M+H)⁺: m/z = 250,1; encontrado: 250,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,78 (s, 1 H), 6,83 (m, 1 H), 6,10 (m, 1 H), 5,83 (m, 1 H), 3,84 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 1,22 (m, 3 H).

Paso 2. [2-(3-acetilo-5-cloro-6-ciano-2-etoxifenilo)-2-hidroxi-etilo]carbamato de *tert*-butilo

[0485] Se añadió tetraóxido de osmio 0,2 M en agua (0,5 ml) a una solución de *tert*-butilo [(4-clorobenzoílo)oxi]carbamato (Ref. Lawrence Harris, J. Org. Chem, 2011, 76, 358-372). (0,91 g, 3,3 mmol) en acetonitrilo (10 ml) y se agitó durante 10 minutos. Se añadió 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-vinilbenzonitrilo (0,56 g, 2,2 mmol) como una solución en acetonitrilo (10 ml) a la solución de carbamato seguido de la adición de agua (2ml) y la reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con disulfuro de dipotasio 10 M saturado en agua (12 ml) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexano (0-100%) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica, 610 mg, 72%. LCMS calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_2\text{O}_5$ (M+H)⁺: m/z = 383,1; encontrado: 383,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,62 (s, 1 H), 7,03 (br s, 1 H), 5,68 (br s, 1 H), 3,96 (m, 1 H), 3,69 (m, 1 H), 3,31 (m, 1 H), 3,19 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 1,30 (m, 12 H).

Paso 3. 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo

[0486] [2-(3-acetilo-5-cloro)-6-ciano-2-etoxifenilo]-2-hidroxi-etilo]carbamato de *tert*-butilo (290 mg, 0,76 mmol) (mezcla racémica del Paso 2) se trató con cloruro de hidrógeno 4,0 M en 1,4-dioxano (6,1 ml) durante 15 minutos y la mezcla se evaporó. El residuo se disolvió en tetrahidrofurano (2,3 ml) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,66 ml, 3,8 mmol). Se añadió *N,N*-carbonildiimidazol (250 mg, 1,5 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo a 70°C durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexano (0-100%) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica, 110 mg, 47%. LCMS calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}_4$ (M+H)⁺: m/z = 309,1; encontrado: 309,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,00 (br s, 1 H), 7,93 (s, 1 H), 5,99 (m, 1 H), 3,89 (m, 1 H), 3,81 (m, 2 H), 3,52 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 1,23 (m, 3 H).

Paso 4. 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxi-etilo)-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo

[0487] El tetrahidroborato de sodio (19 mg, 0,50 mmol) fue añadido a una mezcla de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo (100 mg, 0,34 mmol) (mezcla racémica del Paso 3) en metanol (1,6 ml, 38 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se evaporó. El residuo se diluyó con acetato de etilo, se lavó con 1 N HCl, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el compuesto deseado como una mezcla de cuatro diastereómeros, 58 mg, 55%. LCMS calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_4$ (M+H)⁺: m/z = 311,1; encontrado: 311,1.

Paso 5. 6-cloro-4-(1-cloro-etilo)-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo

[0488] A una mezcla de 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxi-etilo)-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo (58 mg, 0,19 mmol) (mezcla de cuatro diastereómeros del Paso 4), *N,N*-dimetilformamida (36 μl) en cloruro de metileno (1 ml), se añadió cloruro de tionilo (40 μl , 0,56 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con bicarbonato de sodio saturado, agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, filtrada y concentrada para dar el compuesto deseado como una mezcla de cuatro diastereómeros, 55 mg, 91%. LCMS calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$ (M+H)⁺: m/z = 329,0; encontrado: 329,1.

Paso 6. 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo

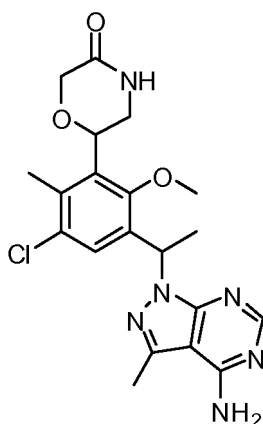
[0489] Carbonato de cesio (0,11 g, 0,34 mmol) se añadió a una mezcla de 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (30 mg, 0,20 mmol) (mezcla de cuatro diastereómeros del paso 5) en *N,N*-dimetilformamida (0,91 ml) y se agitó durante 10 minutos. A la mezcla se le añadió 6-cloro-4-(1-cloro-etilo)-3-etoxi-2-(2-oxo-1,3-oxazolidina-5-ilo)benzonitrilo (56 mg, 0,17 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (1,0 ml) y la reacción se agitó a 90°C durante 1 hora. La purificación por LCMS preparativa (pH 10) usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) dio los compuestos deseados como Pico 1 (mezcla racémica de dos diastereómeros) LCMS calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_7\text{O}_3$ (M+H)⁺: m/z = 442,1; encontrado: 442,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,17 (s, 1 H), 8,00 (br s, 1 H), 7,79 (s, 1 H), 6,25 (m, 1 H), 5,92 (m, 1 H), 3,90 (m, 3 H), 3,57 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 1,75 (m, 3 H), 1,40 (m, 3 H); Pico 2 (mezcla racémica de 2

diastereómeros): LCMS calculada para $C_{20}H_{21}ClN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 442,1; encontrado: 442,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (s, 1 H), 8,00 (br s, 1 H), 7,71 (s, 1 H), 6,23 (m, 1 H), 5,96 (m, 1 H), 3,85 (m, 3 H), 3,58 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 1,75 (m, 3 H), 1,40 (m, 3 H).

5 [0490] La purificación quiral de Pico 2 (mezcla racémica de dos diastereómeros) en Phenomenex Lux Cellulose-1, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras a 18 ml/min usando etanol al 20% en hexanos dio Pico 3 y Pico 4. Pico 3, el tiempo de retención = 12,22 minutos (enantiómero individual); LCMS calculada para $C_{20}H_{21}ClN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 442,1; encontrado: 442,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (s, 1 H), 7,98 (br s, 1 H), 7,71 (s, 1 H), 6,23 (m, 1 H), 5,96 (m, 1 H), 3,85 (m, 3 H), 3,58 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 1,75 (m, 3 H), 1,40 (m, 3 H). Pico 4, tiempo de retención = 16,25 minutos (enantiómero único). LCMS calculada para $C_{20}H_{21}ClN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 442,1; encontrado: 442,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (s, 1 H), 7,98 (br s, 1 H), 7,71 (s, 1 H), 6,23 (m, 1 H), 5,96 (m, 1 H), 3,85 (m, 3 H), 3,58 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 1,75 (m, 3 H), 1,40 (m, 3 H).

15 **Ejemplo 324. 6-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo} morfolin-3-ona**

[0491]



35 Paso 1. 1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-vinilfenilo)etanona

[0492] Una mezcla de 1-(3-bromo-5-cloro-2-metoxi-4-metilfenilo)etanona (2,6 g, 9,5 mmol), 4,4,5,5-tetrametilo-2-vinilo-1,3,2-dioxaborolano (1,9 mL, 11 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (400 mg, 0,5 mmol) y carbonato de potasio (4,0 g, 29 mmol) en 1,4-dioxano (60 ml) y agua (30 ml). La mezcla resultante se calentó a 80°C durante 3 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo. La purificación en un gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-20%) dio el compuesto deseado, 2,0 g, 94%. LCMS calculada para $C_{12}H_{14}ClO_2$ (M+H)⁺: m/z = 225,1; encontrado: 225,1.

45 Paso 2. *Terc*-butilo [2-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-2-hidroxi-etilo]carbamato

[0493] Se añadió tetraóxido de osmio 0,2 M en agua (1 ml) a una solución de carbamato de *terc*-butilo [(4-clorobenzoílo)oxi] (2,0 g, 7,2 mmol) (Ref. Lawrence Harris, J. Org. Chem, 2011, 76, 358-372) en acetonitrilo (22 ml) y se agitó durante 10 minutos. 1-(5-cloro-2-metoxi-4-metilo-3-vinilfenilo)etanona (1,1 g, 4,8 mmol) como una solución en acetonitrilo (22 ml) se añadió a la solución de carbamato seguido de la adición de agua (5 mL). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con disulfuro de dipotasio 10 M saturado en agua (25 ml) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió agua a la reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron a presión reducida. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexano (0-100%) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica, 1,2 g, 69%. LCMS calculada para $C_{17}H_{24}ClNO_5Na$ (M+Na)⁺: m/z = 380,1; encontrado: 380,1. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,48 (s, 1 H), 6,80 (m, 1 H), 5,50 (br s, 1 H), 5,20 (br s, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,32 (m, 1 H), 3,22 (m, 1 H), 2,59 (s, 3 H), 2,55 (s, 3 H), 1,32 (s, 9 H). La purificación quiral en ChiralPak AD-H, 20 x 250 mm (Chiral Technologies), tamaño de partícula de 5 micras, a una velocidad de flujo de 18 ml/min usando etanol al 8% en hexanos proporcionó el Pico 1 (enantiómero único) (tiempo de retención = 9,86 minutos) y Pico 2 (enantiómero único) (tiempo de retención = 11,47 minutos).

60 Paso 3. *N*-[2-(3-Acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-2-hidroxi-etilo]-2-cloroacetamida

[0494] [2-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-2-hidroxi-etilo]carbamato de *terc*-butilo (170 mg, 0,47 mmol) (Pico 1 del Paso 2) se trató con cloruro de hidrógeno 4,0 M en 1,4-dioxano (12 ml) durante 15 minutos. Los disolventes se evaporaron, se añadieron cloruro de metileno (6 ml) y trietilamina (200 µl, 1,4 mmol) y la mezcla se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente cloruro de cloroacetilo (45 µl, 0,56 mmol) y se agitó durante 10 minutos a 0°C. Los solventes se

evaporaron a sequedad. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para dar el residuo crudo como un enantiómero único. LCMS calculada para $C_{14}H_{17}Cl_2NO_4Na$ (M+Na)⁺: m/z = 356,1; encontrado: 356,1.

5 **Paso 4. 6-(3-Acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)morfolina-3-ona**

10 **[0495]** A una solución de *N*-[2-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-2-hidroxietilo]-2-cloroacetamida (170 mg, 0,50 mmol) (enantiómero individual del Paso 3) en tetrahidrofurano (4 ml) se enfrió a 0°C, se añadió una mezcla de hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral; 39 mg, 1,0 mmol) y se agitó durante 1 hora. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para dar el residuo crudo como un enantiómero único, 61 mg, 41%. LCMS calculada para $C_{14}H_{17}ClNO_4$ (M+H)⁺: m/z = 298,1; encontrado: 298,1.

15 **Paso 5. 6-[3-Cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]morfolina-3-ona**

20 **[0496]** A una solución de 6-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)morfolina-3-ona (27 mg, 0,090 mmol) (enantiómero único del Paso 4) en metanol (2ml) se añadió tetrahidrobórato de sodio (6,8 mg, 0,18 mmol) a 0°C y se agitó durante 1 hora. La purificación por LCMS preparativa (pH 10) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica de dos diastereómeros, 20 mg, 76%. LCMS calculada para $C_{14}H_{17}ClNO_3$ (M-OH)⁺: m/z = 282,1; encontrado: 282,1.

25 **Paso 6. 6-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]morfolina-3-ona**

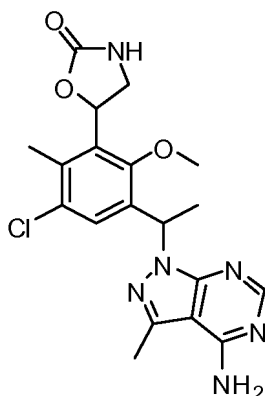
30 **[0497]** Una mezcla de cloruro de tionilo (15 µL, 0,21 mmol) y *N,N*-dimetilformamida (10,0 µl) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Una solución de 6-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]morfolina-3-ona (19,0 mg, 0,0634 mmol) (mezcla racémica de dos diastereómeros del paso 5) en cloruro de metileno (1,0 ml) se añadió y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con bicarbonato de sodio saturado, agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el compuesto deseado como una mezcla racémica de dos diastereómeros, 19 mg, 94%. LCMS calculada para $C_{14}H_{17}ClNO_3$ (M-Cl)⁺: m/z = 282,1; encontrado: 282,1.

35 **Paso 7. 6-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}morfolina-3-ona**

40 **[0498]** Una mezcla de 6-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]morfolina-3-ona (19,0 mg, 0,0597 mmol) (mezcla racémica de dos diastereómeros del Paso 6) 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (11 mg, 0,072 mmol), carbonato de cesio (29 mg, 0,090 mmol) y yoduro de potasio (0,99 mg, 0,006 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,19 ml) se calentó a 140°C durante 1 hora. La mezcla se diluyó con éter, se lavó con agua, se concentró y se purificó mediante LCMS preparativa (pH 10) usando RP-HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml./min) para dar 2,5 mg, 10% de Pico 1 (enantiómero único, tiempo de retención 10,15 min): LCMS calculada para $C_{20}H_{24}ClN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 431,2; encontrado: 431,1, y 2,7 mg, 10% del Pico 2 (enantiómero único, tiempo de retención 10,76 min): LCMS calculada para $C_{20}H_{24}ClN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 431,2; encontrado: 431,1.

45 **Ejemplo 325. 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo}-1,3-oxazolidina-2-ona**

50 **[0499]**



Paso 1. 5-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-1,3-oxazolidina-2-ona

[0500] A una solución de [2-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-2-hidroxietil]carbamato de *tert*-butilo (140 mg, 0,40 mmol) (Pico 1, enantiómero único del Paso 2, Ejemplo 324) en tetrahidrofurano (2,5 mL), *N,N*-diisopropiletilamina (0,35 mL, 2,0 mmol) y *N,N*-carbonildiimidazol (130 mg, 0,80 mmol). La reacción se calentó a reflujo a 70°C durante 10 minutos. La reacción se evaporó a sequedad. La purificación en gel de sílice usando (0-50%)acetato de etilo en hexano dio el compuesto deseado como un enantiómero único, 78 mg, 69%. LCMS calculada para C₁₃H₁₅ClNO₄ (M+H)⁺: m/z = 284,1; encontrado: 284,1.

Paso 2. 5-[3-Cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

[0501] A una solución de 5-(3-acetilo-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo)-1,3-oxazolidina-2-ona (21 mg, 0,072 mmol) (enantiómero único del Paso 1) en metanol (1 ml) tetrahidrobórato de sodio (5,5 mg, 0,14 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora. Se diluyó con metanol y se purificó en LCMS preparativa usando tampón de pH 10 para dar el compuesto deseado como una mezcla racémica de dos diastereómeros, 17 mg, 83%. LCMS calculada para C₁₃H₁₅ClNO₃ (M-OH)⁺: m/z = 268,1; encontrado: 268,1.

Paso 3. 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

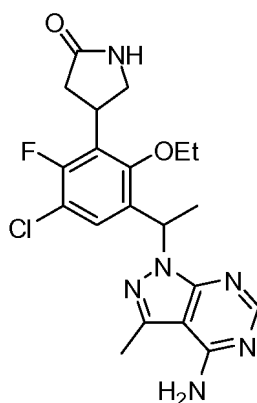
[0502] Una mezcla de cloruro cianúrico (16 mg, 0,084 mmol) y *N,N*-dimetilformamida (15 µl) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Una solución de 5-[3-cloro-5-(1-hidroxietilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona (16 mg, 0,056 mmol) (mezcla racémica de dos diastereómeros de Paso 2) en cloruro de metileno (0,3 ml) se añadió y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió cloruro de tionilo (12 µl, 0,17 mmol) y se agitó durante 10 minutos. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con bicarbonato de sodio saturado, agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto deseado como una mezcla racémica de dos diastereómeros, 17 mg, 100%. LCMS calculada para C₁₃H₁₆Cl₂NO₃ (M+H)⁺: m/z = 304,0; encontrado: 304,1.

Paso 4. 5-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-metoxi-6-metilfenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

[0503] Una mezcla de 5-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-metoxi-2-metilfenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona (17 mg, 0,056 mmol) (mezcla racémica de dos diastereómeros del Paso 3) 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (10 mg, 0,067 mmol), carbonato de cesio (27 mg, 0,084 mmol) y yoduro de potasio (0,93 mg, 0,0056 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,18 ml) se calentó a 140°C durante 1 hora. La mezcla se diluyó con éter, se lavó con agua, se concentró y se purificó por LCMS preparativa (pH 10) para dar el compuesto deseado como una mezcla racémica de dos diastereómeros, 2,2 mg, 9%; LCMS calculada para C₁₉H₂₂ClN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 417,1; encontrado: 417,1.

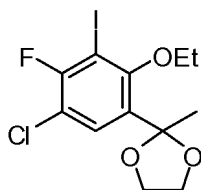
Ejemplos 345-348. Diastereoisómeros de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona

[0504]



Paso 1. 1-(5-cloro-2-etoxi-3-yodo-4-metilfenilo)etanol

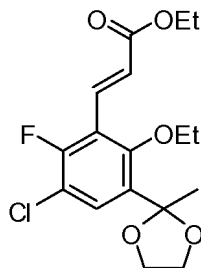
[0505]



[0506] Una solución de 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona (20,0 g, 58,4 mmol; Ejemplo 212, Paso 1) y 1,2-etanodiol (6,5 ml, 120 mmol) en tolueno (190 ml) se trató con monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (1,1 g, 5,8 mmol). El matraz se equipó con una trampa Dean-Stark que se llenó con tamices y se calentó a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió y se añadió a una solución saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo (250 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta un aceite de naranja crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0%-20%) para dar el producto deseado (22 g, 99%). LCMS para $C_{12}H_{14}ClFO_3$ (M+H)⁺: m/z = 387,0; Encontrado: 386,9.

Paso 2. (2E)-3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]acrilato de etilo

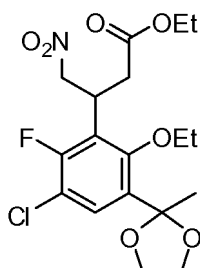
[0507]



[0508] Una mezcla de 2-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)-2-metilo-1,3-dioxolano (22 g, 58 mmol) (del Paso 1), etilo (2E)-3-(4,4,5,5-tetrametilo-1,3,2-dioxaborolano-2-ilo)acrilato (16 ml, 70 mmol) y carbonato de potasio (24 g, 170 mmol) en 1,4-dioxano (230 ml) y agua (110 ml) se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. La mezcla de reacción se trató con [1,1'-bis (difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo con diclorometano (1:1) (2,4 g, 2,9 mmol), se desgasificó con nitrógeno durante otros 10 minutos y se calentó a 80°C durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con acetato de etilo (300 ml). El filtrado se vertió en agua (400 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo adicional (300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron hasta un sólido marrón crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetato de etilo en hexanos (0%-30%) para dar el producto deseado (20 g, 96%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,74 (d, *J* = 16,5 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,70 (dd, *J* = 16,5, 0,9 Hz, 1H), 4,26 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 4,10-3,99 (m, 2H), 3,91 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,87-3,76 (m, 2H), 1,73 (s, 3H), 1,44 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,33 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). LCMS para $C_{17}H_{21}ClFO_5$ (M+H)⁺: m/z = 359,1; Encontrado: 359,1.

Paso 3. 3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]-4-nitrobutanoato de etilo

[0509]

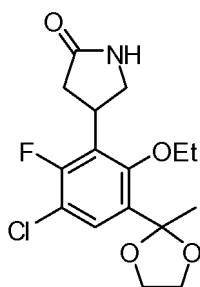


[0510] Una solución de etilo (2E)-3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]acrilato (10 g, 28 mmol) (del Paso 2) en nitrometano (100 ml) se trató con 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (4,6 ml, 31 mmol) y se agitó a 60°C durante 15 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (400 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron hasta obtener un aceite de naranja crudo. El material bruto se purificó por cromatografía en columna

flash usando acetato de etilo en hexanos (0%-30%) para dar el producto deseado como una mezcla de enantiómeros (10,4 g, 89%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,52 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 4,82 (ddd, $J = 12,5, 7,6, 1,4$ Hz, 1H), 4,68 (dd, $J = 12,5, 7,2$ Hz, 1H), 4,54-4,40 (m, 1H), 4,15-3,90 (m, 6H), 3,89-3,75 (m, 2H), 2,85 (ddd, $J = 16,0, 8,6, 1,4$ Hz, 1H), 2,73 (dd, $J = 16,1, 6,2$ Hz, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,47 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,21 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClFNO}_7$ (M+H) $^+$: m/z = 420,1; Encontrado: 420,1.

Paso 4. Enantiómeros 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]pirrolidina-2-ona

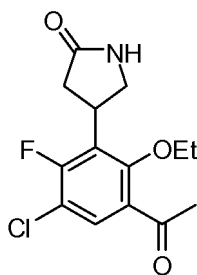
[0511]



[0512] Una suspensión de 3-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]-4-nitrobutanoato de etilo (1,0 g, 2,4 mmol) (de Paso 3) en etanol (16 ml) se calentó para disolver el sólido. La solución se enfrió nuevamente a temperatura ambiente, se desgasificó con nitrógeno y se trató con una suspensión de 2800 níquel Raney en agua (1,5 ml). La mezcla de reacción se desgasificó nuevamente con nitrógeno y se hidrogenó con un globo de hidrógeno durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró para dar el aminoéster intermedio (0,93 g, 100%). El aminoéster intermedio se disolvió en tolueno (12 ml) y se calentó a 110°C durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, momento en el que precipitó un sólido de la solución. Esta mezcla se enfrió a 0°C, se agitó durante 30 minutos, se filtró, se lavó con tolueno frío y se secó para dar el producto deseado como una mezcla de enantiómeros (0,61 g, 75%). LCMS para $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClFNO}_4$ (M+H) $^+$: m/z = 344,1; Encontrado: 344,1. La mezcla de enantiómeros se separó por HPLC quiral para dar los enantiómeros individuales como Pico 1 y Pico 2 (TA = 5,39 min y 7,01 min, respectivamente; Phenomenex Lux Cellulose C-1, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 20% en hexanos a 18 ml/min).

Paso 5. Enantiómeros de 4-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona

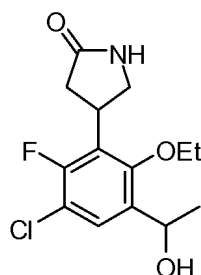
[0513]



[0514] Los enantiómeros separados del Paso 4 se procesaron individualmente en los compuestos finales. Una solución de 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(2-metilo-1,3-dioxolano-2-ilo)fenilo]pirrolidina-2-ona (1,7 g, 5,0 mmol) (del Paso 4) en metanol (17 ml) se trató con cloruro de hidrógeno 6,0 M en agua (11 ml, 69 mmol) gota a gota y se agitó a 20°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a una solución saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo (75 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar los productos deseados [desde el Pico 1 (1,5 g, 99%); del Pico 2 (1,5 g, 99%)] que se usaron sin purificación adicional. Desde el Pico 1: ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,84 (s, 1H), 7,70 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 4,16-3,99 (m, 1H), 3,83 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 3,65-3,54 (m, 1H), 3,30-3,23 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,33 (dd, $J = 16,8, 8,4$ Hz, 1H), 1,30 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClFNO}_3$ (M+H) $^+$: m/z = 300,1; Encontrado: 300,0. Desde el pico 2: ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,84 (s, 1H), 7,70 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 4,13-4,00 (m, 1H), 3,87-3,77 (m, 2H), 3,65-3,55 (m, 1H), 3,31-3,23 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,32 (ddd, $J = 16,9, 8,4, 1,6$ Hz, 1H), 1,30 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). LCMS para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClFNO}_3$ (M+H) $^+$: m/z = 300,1; Encontrado: 300,1.

Paso 6. Diastereoisómeros de 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)fenilo]pirrolidina-2-ona

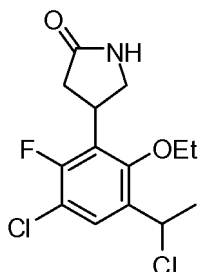
[0515]



[0516] Los enantiómeros del paso 5 se procesaron individualmente para los productos finales. Una solución de 4-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona (0,402 g, 1,34 mmol) (del Paso 5) en metanol anhidro (6,7 ml) en una atmósfera del nitrógeno a 0°C se trató con tetrahidroborato de sodio (0,10 g, 2,7 mmol) y se agitó a 0°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se inactivó con agua a 0°C y se vertió en agua (50 ml)/acetato de etilo (100 ml) mientras se agitaba. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y la capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo adicional (50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar espumas blancas. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando acetonitrilo (que contiene 7% de metanol) en diclorometano (0%-100%) para dar los productos deseados como mezclas de diastereoisómeros [desde el Pico 1 (0,40 g, 99%); del Pico 2 (0,40 g, 99%)]. De Pico 1: LCMS para C₁₄H₁₈ClFNO₃ (M+H)⁺: m/z = 302,1; Encontrado: 302,0. De pico 2: LCMS para C₁₄H₁₈ClFNO₃ (M+H)⁺: m/z = 302,1; Encontrado: 302,1.

Paso 7. Diastereoisómeros de 4-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]pirrolidina-2-ona

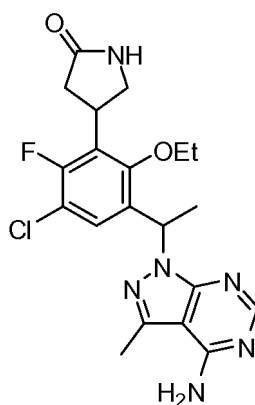
[0517]



[0518] La mezcla de diastereoisómeros del paso 6 se procesó individualmente para los productos finales. Una solución de 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxietilo)fenilo]pirrolidina-2-ona (0,41 g, 1,4 mmol) (del Paso 6) en cloruro de metileno (12 ml) se trató con *N,N*-dimetilformamida (0,011 ml, 0,14 mmol) seguido de cloruro de tionilo (0,21 ml, 2,9 mmol) gota a gota y se agitó a 20°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a una solución saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para proporcionar los productos deseados [desde el Pico 1 (0,38 g, 87%); del Pico 2 (0,39 g, 89%)] junto con el 17-18% del estireno que se formó a partir de la eliminación del cloruro. Estas mezclas se usaron sin purificación adicional. De Pico 1: LCMS para C₁₄H₁₇Cl₂FNO₂ (M+H)⁺: m/z = 320,1; Encontrado: 320,0. De pico 2: LCMS para C₁₄H₁₇Cl₂FNO₂ (M+H)⁺: m/z = 320,1; Encontrado: 320,0.

Paso 8. Diastereoisómeros de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona

[0519]



5

10

15

20

25

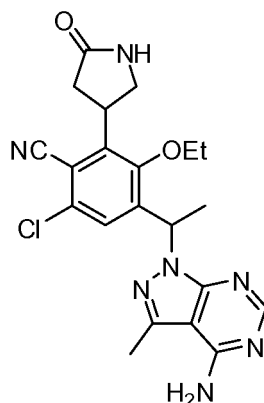
30

35

[0520] La mezcla de diastereoisómeros del Paso 7 se procesaron individualmente en los productos finales. Una mezcla de 4-[3-cloro-5-(1-cloroetilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]pirrolidina-2-ona (0,36 g, 1,1 mmol) (del Paso 7), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,19 g, 1,3 mmol), carbonato de cesio (0,54 g, 1,7 mmol) y yoduro de potasio (18 mg, 0,11 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (7,4 mL) se calentó a 100°C durante 4,5 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml) para dar una mezcla de diastereoisómero ((S)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona; (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona; (S)-4-(3-((R)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona y (R)-4-(3-((R)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona). La mezcla de diastereoisómeros se purificó por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 60 ml/min) para dar los productos deseados [del Pico 1 se aisló el pico A (compuesto 345) (0,13 g, 54%) y pico B (compuesto 346) (0,11 g, 46%); del Pico 2 se aislaron el pico A (compuesto 347) (0,15 g, 63%) y el pico B (compuesto 348) (0,14 g, 55%)]. Compuesto 346: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,30 (br s, 1H), 6,23 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,05-3,90 (m, 1H), 3,88-3,78 (m, 2H), 3,63-3,53 (m, 1H), 3,29-3,20 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,38-2,21 (m, 1H), 1,70 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,39 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS para C₂₀H₂₃ClFN₆O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 433,2; Encontrado: 433,1. Compuesto 347: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,26 (br s, 2H), 6,24 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,04-3,94 (m, 1H), 3,93-3,85 (m, 1H), 3,84-3,77 (m, 1H), 3,61-3,53 (m, 1H), 3,27-3,22 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,30 (dd, *J* = 18,1, 8,6 Hz, 1H), 1,71 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,40 (t, *J* = 6,9 Hz, 3 H) LCMS para C₂₀H₂₃ClFN₆O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 433,2; Encontrado: 433,1.

Ejemplos 349-352. Diastereoisómeros de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo

40

[0521]

45

50

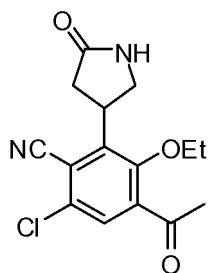
55

Paso 1. Enantiómeros de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo

60

[0522]

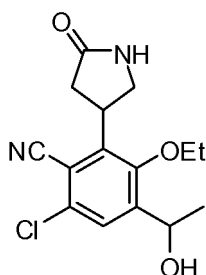
65



[0523] Una mezcla racémica de 4-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)pirrolidina-2-ona (0,20 g, 0,67 mmol) (del Ejemplo 345, Paso 5) y cianuro de sodio (0,057 g, 1,2 mmol) en dimetilsulfóxido (1,5 ml) se agitó a 80°C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (35 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar un residuo crudo. El material bruto se purificó por cromatografía de columna flash usando éter (que contenía metanol al 10%) en hexanos (0%-100%) para dar el producto deseado (0,15 g, 71%) como una mezcla de enantiómeros. LCMS para $C_{15}H_{16}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 307,1; Encontrado: 307,0. La mezcla de enantiómeros se separó por HPLC quiral para dar los enantiómeros individuales como Pico 1 y Pico 2 (TA = 5,00 min y 10,4 min; Phenomenex Lux Cellulose C-2, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con 60% etanol en hexanos a 18 ml/min).

Paso 2. *Diastereoisómeros de 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo*

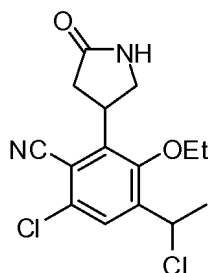
[0524]



[0525] Los enantiómeros del paso 1 se procesaron individualmente para los productos finales. Una solución de 4-acetilo-6-cloro-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo (del Pico 1: 0,83 g, 2,7 mmol; del pico 2: 0,86 g, 2,8 mmol) en anhídrido metanol (14 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C se trató con tetrahidrobórato de sodio (0,20 g, 5,4 mmol) y se agitó a 0°C durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó con agua a 0°C y se vertió en agua (50 ml)/acetato de etilo (100 ml) mientras se agitaba. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y la capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo adicional (50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar los productos deseados como mezclas de diastereoisómeros [desde el Pico 1 (0,83 g, 99%); del Pico 2 (0,87 g, 99%)]. De Pico 1: LCMS para $C_{15}H_{16}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 309,1; Encontrado: 309,1. De Pico 2: LCMS para $C_{15}H_{16}ClN_2O_3$ (M+H)⁺: m/z = 309,1; Encontrado: 309,1.

Paso 3. *Diastereoisómeros de 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo*

[0526]

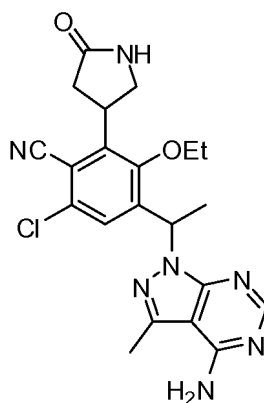


[0527] La mezcla de diastereoisómeros del Paso 2 se procesaron individualmente a los productos finales. Una solución de 6-cloro-3-etoxi-4-(1-hidroxietilo)-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo (del Pico 1: 0,83 g, 2,7 mmol; del Pico 2: 0,87 g, 2,8 mmol) en cloruro de metileno (23 ml) se trató con *N,N*-dimetilformamida (0,021 ml, 0,27 mmol) seguido de cloruro

de tionilo (0,490 ml, 6,72 mmol) gota a gota y se agitó a 20°C durante 2 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a una solución saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar los productos deseados como mezclas de diastereoisómeros [desde el Pico 1 (0,85 g, 97%); del Pico 2 (0,90 g, 98%)]. Estas mezclas se usaron sin purificación adicional. De Pico 1: LCMS para C₁₅H₁₇Cl₂N₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 327,1; Encontrado: 327,1. De Pico 2: LCMS para C₁₅H₁₇Cl₂N₂O₂ (M+H)⁺: m/z = 327,1; Encontrado: 327,1.

Paso 4. Diastereoisómeros de 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo

[0528]

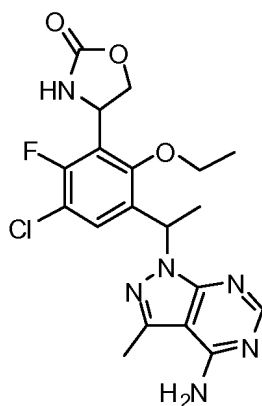


[0529] La mezcla de diastereoisómeros del Paso 3 se procesaron individualmente. Una mezcla de 6-cloro-4-(1-cloroetilo)-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo (del Pico 1: 0,85 g, 2,6 mmol; del Pico 2: 0,89 g, 2,7 mmol), 3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (0,46 g, 3,1 mmol), carbonato de cesio (1,3 g, 3,9 mmol) y yoduro de potasio (43 mg, 0,26 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (17 ml, 220 mmol) se calentó a 90°C durante 3 h.

La mezcla de reacción se vertió en agua (100 ml)/acetato de etilo (100 ml) y se filtró a través de Celite para eliminar los sólidos negros. La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (2x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar espumas blancas. El material bruto se purificó por cromatografía en columna flash usando metanol en diclorometano (0%-20%) para dar los productos deseados como mezclas de diastereoisómeros [del Pico 1 (0,49 g, 43%); del Pico 2 (0,53 g, 44%)]. El análisis analítico por HPLC quiral de los diastereoisómeros del Pico 1 reveló una mezcla de cuatro picos en lugar de los dos deseados debido a la epimerización. El análisis de los diastereoisómeros del Pico 2 también reveló cuatro picos. Ambos conjuntos de mezclas se combinaron y purificaron mediante HPLC quiral para dar cuatro picos individuales (TA = 6,41 min, 8,13 min, 9,93 min, 14,4 min; Phenomenex Lux Cellulose C-2, 21,2 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 micras, eluyendo con etanol al 60% en hexanos a 18 ml/min). Los compuestos del Pico 1 (compuesto 351), el Pico 2 (compuesto 349), el Pico 3 (compuesto 352) y el Pico 4 (compuesto 350) se ensayaron luego en los ensayos de los ejemplos A3 y B2. Compuesto 349: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,26 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,32-4,20 (m, 1H), 4,00-3,91 (m, 1H), 3,90-3,81 (m, 1H), 3,65-3,59 (m, 1H), 3,49-3,42 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 1,74 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,43 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS para C₂₁H₂₃ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 440,2; Encontrado: 440,2. Compuesto 352: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,26 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,32-4,19 (m, 1H), 3,97-3,82 (m, 2H), 3,67-3,59 (m, 1H), 3,49-3,40 (m, 1H), 2,59-2,52 (m, 3H), 1,73 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,42 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS para C₂₁H₂₃ClN₇O₂ (M+H)⁺: m/z = 440,2; Encontrado: 440,2.

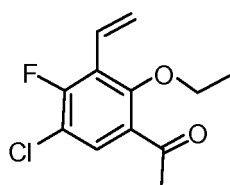
Ejemplos 353 y 354. Diastereómeros de 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}-1,3-oxazolidina-2-ona

[0530]



Paso 1: 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-vinilfenilo)etanona

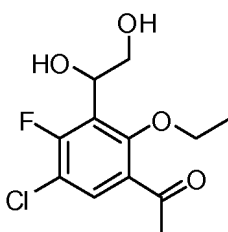
[0531]



[0532] Una mezcla de 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-yodofenilo)etanona (13,3 g, 38,8 mmol) (del Ejemplo 139, Paso 1), 4,4,5,5-tetrametilo-2-vinilo-1,3,2-dioxaborolano (7,9 ml, 46 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (1,0 g, 1,0 mmol) y carbonato de potasio (16 g, 120 mmol) en 1,4-dioxano (200 ml) y agua (100 ml) se calentó a 80°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-30%) dio el compuesto deseado, 7,0 g, 74%. LCMS calculada para C₁₂H₁₃ClFO₂ (M+H)⁺: m/z = 243,0; encontrado: 243,1.

Paso 2: 1-[5-cloro-3-(1,2-dihidroxi-etilo)-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona

[0533]

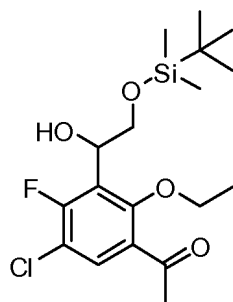


[0534] AD-mix-alfa (5,8 g, 7,3 mmol) (Aldrich nº 392758) se agitó en alcohol terc-butílico (21 ml) con agua (21 ml) durante 15 minutos. Se añadió 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-vinilfenilo)etanona (1,0 g, 4,1 mmol) (del Paso 1) y la suspensión se agitó durante 16 horas. Se añadió sulfito de sodio (6,2 g, 49 mmol) y la suspensión se agitó durante 15 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-80%) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica, 900 mg, 80%. La purificación quiral en Phenomenex Lux Cellulose C-2, 21,2 x 250 mm (Chiral Technologies), tamaño de partícula de 5 micras, a una velocidad de flujo de 18 ml/min usando etanol al 20% en hexanos dio el Pico 1 (enantiómero único) (tiempo de retención = 7,88 minutos) y Pico 2 (enantiómero único) (tiempo de retención = 11 minutos); el deseado enantiómero era Pico 2. LCMS calculada para C₁₂H₁₃ClFO₃ (M-OH)⁺: m/z = 259,1; encontrado: 259,1.

Paso 3: 1-[3-(2-[[terc-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]-1-hidroxi-etilo)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona

[0535]

5



10

[0536] 1-[5-Cloro-3-(1,2-dihidroxiethyl)-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona (700 mg, 2 mmol) (del Paso 2, Pico 2) se agitó en 1,2-dicloroetano (6 ml) con *N,N*-diisopropiletilamina (4,0 mL, 23 mmol) y una solución 1,0 M de cloruro de *tert*-butildimetilsililo en 1,2-dicloroetano (7,6 mL). La mezcla se calentó a 80°C durante 3 horas y se enfrió a temperatura ambiente. La evaporación y purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-50%) dio el compuesto deseado 800 mg, 80%. LCMS calculada para $C_{18}H_{28}ClFO_4SiNa$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 413,1$; encontrado: 413,1.

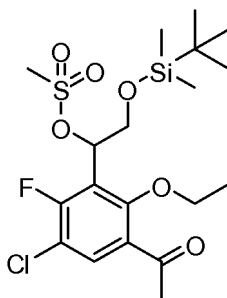
15

20

*Paso 4: 1-(3-acetilo-S-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-[[*tert*-butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo metanosulfonato*

[0537]

25



30

35

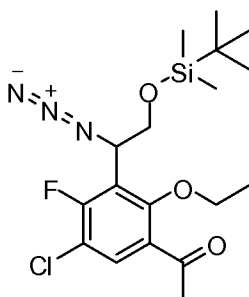
[0538] 1-[3-(2-[[*tert*-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]-1-hidroxiethyl)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona (700 mg, 2,0 mmol) (del Paso 3) se agitó en 1,2-dicloroetano (15 ml) con trietilamina (2,0 ml, 14 mmol) y anhídrido metanosulfónico (670 mg, 3,8 mmol) a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla se vertió en salmuera y se extrajo con diclorometano. Los extractos se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto deseado 830 mg, 100%. LCMS calculada para $C_{18}H_{27}ClFO_3Si$ ($M-OMs$)⁺: $m/z = 373,1$; encontrado: 373,1.

40

*Paso 5: 1-[3-(1-Azido-2-[[*tert*-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona*

[0539]

45



50

55

[0540] 1-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-[[*tert*-butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo metanosulfonato (0,83 g, 1,77 mmol) (del Paso 4) se agitó en se añadió dimetilsulfóxido (10 ml) y azida de sodio (0,12 g, 1,8 mmol). La mezcla se calentó a 50°C durante 1 hora y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en salmuera y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto deseado 736 mg, 100%. LCMS calculada para $C_{18}H_{27}ClFN_3O_3SiNa$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 438,1$; encontrado: 438,1.

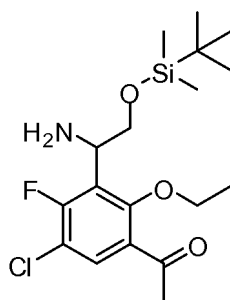
60

*Paso 6: 1-[3-(1-Amino-2-[[*tert*-Butilo(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona*

65

[0541]

5



10

[0542] 1-[3-(1-Azido-2-[[*tert-Butilo*(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona (750 mg, 1,8 mmol) (del Paso 5) se agitó en tetrahidrofurano (10 ml) con agua (0,33 ml) y se añadió trifenilfosfina. La mezcla se calentó a 60°C durante 2 horas y se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió salmuera y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto deseado 700 mg, 100%. LCMS calculada para $C_{18}H_{30}ClFNO_3Si$ ($M+H$)⁺: $m/z = 390,2$; encontrado: 390,2.

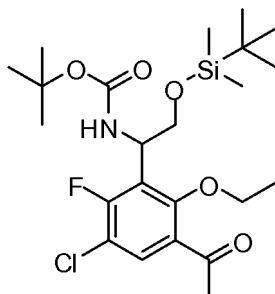
15

20

*Paso 7: (1-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-[[*tert-butilo*(dimetilo)sililo]oxi]etilo)carbamato de *tert-butilo**

[0543]

25



30

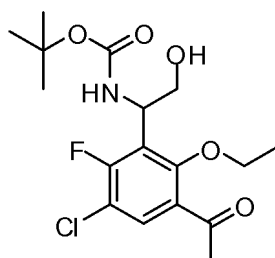
35

[0544] 1-[3-(1-Amino-2-[[*tert-Butilo*(dimetilo)sililo]oxi]etilo)-5-cloro-2-etoxi-4-fluorofenilo]etanona (700 mg, 2,0 mmol) (del Paso 6) se agitó en tetrahidrofurano (30 ml) con di-*tert-butilo*dicarbonato (780 mg, 3,6 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,94 ml, 5,4 mmol) se añadió. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió salmuera y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-30%) dio el compuesto deseado 550 mg, 60%. LCMS calculada para $C_{23}H_{37}ClFNO_5SiNa$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 512,2$; encontrado: 512,2.

40

*Paso 8: [1-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-hidroxietilo]carbamato de *tert-butilo**

45

[0545]

50

55

[0546] (1-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-[[*tert-Butilo*(dimetilo)sililo]oxi]etilo)carbamato de *tert-butilo* (500 mg, 1,0 mmol) (del Paso 7) se agitó en tetrahidrofurano (10 ml) y se añadió una solución 1,0 M de fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se evaporó. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-50%) dio el compuesto deseado 238 mg, 60%. LCMS calculada para $C_{17}H_{23}ClFNO_5Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 398,1$; encontrado: 398,1.

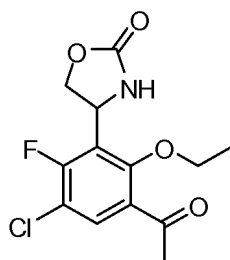
60

Paso 9: 4-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-1,3-oxazolidina-2-ona

65

[0547]

5



10

15

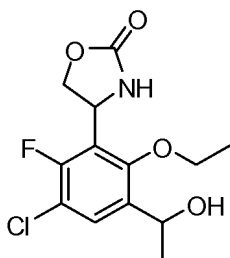
[0548] [1-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-hidroxi-etilo]carbamato de *terc*-butilo (234 mg, 0,62 mmol) (del Paso 8) se disolvió en 1,2-dicloroetano (12 ml) y se añadió una solución de fosgeno 2,0 M en tolueno (0,93 ml). La mezcla se calentó a 80°C durante 1,5 horas. La evaporación y purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-85%) dio el compuesto deseado, 175 mg, 93%. LCMS calculada para C₁₃H₁₄ClFNO₄ (M+H)⁺: m/z = 302,1; encontrado: 302,1.

Paso 10: 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxi-etilo)fenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

20

[0549]

25



30

35

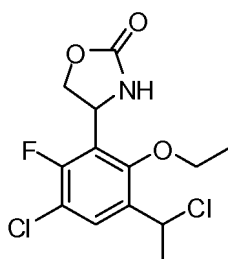
[0550] 4-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-1,3-oxazolidina-2-ona (175 mg, 0,58 mmol) se agitó en metanol (10 ml) a 0°C y se añadió tetrahidrobórato de sodio (33 mg, 0,87 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se evaporó. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar una mezcla aproximada 1:1 de diastereómeros, 175 mg, 99%. LCMS calculada para C₁₃H₁₅ClFNO₄Na (M+Na)⁺: m/z = 326,1; encontrado: 326,1.

Paso 11: 4-[3-cloro-5-(cloro-etilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

40

[0551]

45



50

55

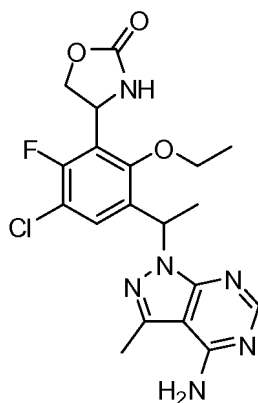
[0552] 4-[3-cloro-6-etoxi-2-fluoro-5-(1-hidroxi-etilo)fenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona (150 mg, 0,49 mmol) (del Paso 10) se agitó en diclorometano (4 ml) con *N,N*-dimetilformamida (96 µl) y cloruro de tionilo (110 µl 1,5 mmol) se añadió. La mezcla se evaporó. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto deseado, 159 mg, 100%.

Paso 12: 4-[3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona

60

[0553]

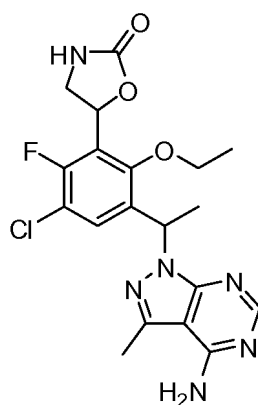
65



5
10
15
[0554] 4-[3-cloro-5-(cloroetilo)-6-etoxi-2-fluorofenilo]-1,3-oxazolidina-2-ona (160 mg, 0,50 mmol) (del Paso 11) se agitó en *N,N*-dimetilformamida (21 ml) con carbonato de cesio (324 mg, 0,99 mmol) y se añadió 3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-
20 d]pirimidina-4-amina (89 mg, 0,60 mmol). La mezcla se calentó a 80°C durante 1,5 horas y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. La purificación por LCMS preparativa (pH 10) usando RP-
25 HPLC (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene hidróxido de amonio al 0,1%, a una velocidad de flujo de 30 ml/min) separó los dos diastereómeros (Pico 1 [compuesto 353] Ta = 4,9 min. Y Pico 2 [compuesto 354] Ta = 5,6 min.); proporcionando el compuesto 354 como el enantiómero individual deseado, 28 mg, 13%. Pico 2: LCMS calculada para C₁₉H₂₁ClFNO₃ (M+H)⁺: m/z = 435,1; encontrado: 435,1. ¹H RMN (300 MHz, CD₃ OD): δ 8,15 (s, 1 H), 7,62 (m, 1 H), 6,31 (m, 1 H), 5,39 (m, 1 H), 4,79 (m, 1 H), 4,40 (m, 1 H), 3,95 (m, 1 H), 3,80 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 1,80 (m, 3 H), 1,40 (m, 3 H).

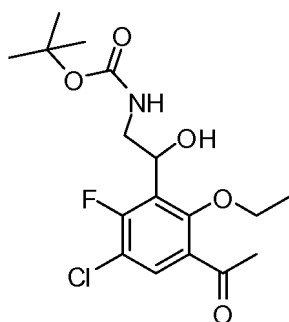
30 **Ejemplos 355-358. Diastereómeros de 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}-1,3-oxazolidina-2-ona**

[0555]



35
40
45
50 *Paso 1: [2-(3-acetilo-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo)-2-hidroxietilo]carbamato de terc-butilo*

[0556]

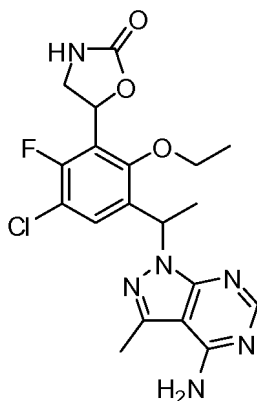


55
60
65

[0557] Se añadió tetraóxido de osmio 0,2 M en agua (10 ml) a una solución de [(4-clorobenzilo)oxi]carbamato de *terc*-butilo (Lawrence Harris, J. Org. Chem, 2011, 76, 358-372). (19 g, 70 mmol) en acetonitrilo (210 ml) y se agitó durante 10 minutos. 1-(5-cloro-2-etoxi-4-fluoro-3-vinilfenilo)etanona (11,2 g, 46 mmol) (del Ejemplo 353, Paso 1) como una solución en acetonitrilo (210 ml) se añadió a la solución de carbamato seguido de la adición de agua (50 ml) y la reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con disulfito de dipotasio 10 M saturado en agua (240 ml) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y evaporaron. La purificación en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos (0-100%) dio el compuesto deseado como una mezcla racémica, 16,6 g, 95%. LCMS calculada para C₁₇H₂₃ClFNO₅ Na (M+Na)⁺: m/z = 398,1; encontrado: 398,0.

Paso 2: 5-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}-1,3-oxazolidina-2-ona

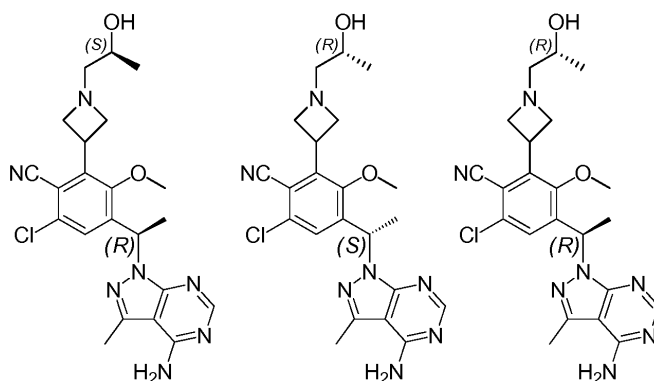
[0558]



[0559] El enantiómero individual deseado (Pico 3) se preparó usando el mismo procedimiento que el Ejemplo 353 (pasos 8-12), excepto que el intermedio del paso 1 en este ejemplo fue racémico y, por lo tanto, la separación final de los cuatro diastereómeros se produjo en el paso 12. Purificación quiral en Phenomenex Lux Cellulose C-4, 21 x 250 mm (Chiral Tecnologías), tamaño de partícula de 5 micras, a una velocidad de flujo de 18 ml/min usando etanol al 30% en hexanos dio el Pico 1: compuesto 355 (enantiómero simple) (tiempo de retención = 12,7 minutos), Pico 2: compuesto 356 (enantiómero simple) (tiempo de retención = 14,2 minutos), Pico 3: compuesto 357 (enantiómero simple) (tiempo de retención = 20,3 minutos) y Pico 4: compuesto 358 (enantiómero único) (tiempo de retención = 28,9 minutos); el enantiómero más activo fue de Pico 3. LCMS calculada para C₁₉H₂₁ClFN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 435,1; encontrado: 435,1. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,15 (s, 1 H), 7,81 (s, 1 H), 7,71 (d, 1 H), 7,26 (bs, 1 H), 6,23 (m, 1 H), 5,84 (t, 1 H), 3,92 (m, 1 H), 3,83 (m, 1 H), 2,52 (s, 3 H), 1,75 (d, 3 H), 1,40 (m, 3 H)

Ejemplos 361-363. Diastereómeros de 4-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-(1-(2-hidroxipropilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo

[0560] Basado en la stereoquímica del Ejemplo 269, se cree que la stereoquímica de cada diastereómero es 4-((*R*)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-(1-((*S*)-2-hidroxipropilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo (Ejemplo 361), 4-((*S*)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-(1-((*R*)-2-hidroxipropilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo (Ejemplo 362), y 4-((*R*)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo)-6-cloro-2-(1-((*R*)-2-hidroxipropilo)acetidina-3-ilo)-3-metoxibenzonitrilo (Ejemplo 363) (estructuras mostradas a continuación)



Síntesis del Ejemplo 361:

[0561] A (*R*)-4-(1-(pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo)-2-(acetidina-3-ilo)-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (6,00 g, 14,3 mmol) se añadió metanol (72 ml). A la suspensión resultante se añadió (*S*)-(-)-metiloxirano (2,01 ml, 28,6 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 19 h. Se añadió (*S*)-(-)-metiloxirano adicional (0,50 ml, 7,2 mmol) y la agitación continuó durante una hora adicional. A la mezcla de reacción se le añadió agua (280 ml) y la solución turbia se agitó. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno (300 ml x 4). La capa orgánica se combinó y se lavó con salmuera (50 ml) y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de sílice eluida con MeOH (contenía aproximadamente 0,5% de hidróxido de amonio) en cloruro de metileno. Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se evaporaron a sequedad. Este residuo se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para dar el compuesto del título. Se analizó una muestra del compuesto del título mediante espectroscopía de RMN y espectrometría de masas y se obtuvieron los siguientes datos. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 8,11 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,24 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,32 (br s, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,59 (m, 1H), 3,08 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,38-2,19 (m, 2H), 1,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H) ppm. LCMS para C₂₂H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 456,2; encontrado: 456,2.

Síntesis del Ejemplo 362:

[0562] A (*S*)-4-(1-(pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo)-2-(acetidina-3-ilo)-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (293,0 mg, 0,73 mmol) se añadió metanol (3,7 ml). A la suspensión resultante se le añadió (*R*)-(+)-metiloxirano 103 μl (1,46 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 19 h. Se añadió (*R*)-(+)-metiloxirano adicional (51,3 μL, 0,73 mmol) y la agitación continuó durante 2,5 horas adicionales. A la mezcla de reacción se le añadió agua (14 ml) y la solución turbia se agitó. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno (4 x 16 ml). La capa orgánica se combinó y se lavó con salmuera (50 ml) y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de sílice, se eluyó con MeOH (contenía aproximadamente 0,5% de hidróxido de amonio) en cloruro de metileno. Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se evaporaron a sequedad. Este residuo se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para dar el compuesto del título. Se analizó una muestra del compuesto del título mediante espectroscopía de RMN y espectrometría de masas y se obtuvieron los siguientes datos. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 8,11 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,24 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,37 (br s, 1H), 4,09 (m, 2H), 3,93 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,59 (m, 1H), 3,12 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,39-2,26 (m, 2H), 1,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,2 Hz, 3 H) ppm. LCMS para C₂₂H₂₇ClN₇O₂ (M+H)⁺: *m/z* = 456,2; encontrado: 456,2.

Síntesis del Ejemplo 363:

[0563] A (*R*)-4-(1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina-1-ilo)etilo)-2-(acetidina-3-ilo)-6-cloro-3-metoxibenzonitrilo (6,0 g, 14,3 mmol) se añadió metanol (72 ml). A la suspensión resultante se añadió (*R*)-(+)-metiloxirano (2,01 ml, 28,6 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (280 ml) y la solución turbia se agitó. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno (300 ml x 4). La capa orgánica se combinó y se lavó con salmuera (50 ml) y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de sílice, se eluyó con MeOH (contenía aproximadamente 0,5% de hidróxido de amonio) en cloruro de metileno. Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se evaporaron a sequedad. Este residuo se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para dar el compuesto del título. Se analizó una muestra del compuesto del título mediante espectroscopía de RMN y espectrometría de masas y se obtuvieron los siguientes datos. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 8,11 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,29 (br s, 2H), 6,24 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,31 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 4,11-4,00 (m, 1H), 3,98-3,90 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,61-3,53 (m, 2H), 3,07 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,28 (d, *J* = 5,9 Hz, 2H), 1,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,2 Hz, 3 H) ppm.

[0564] Se desarrollaron tres métodos de HPLC para separar los estereoisómeros del compuesto del Ejemplo 269. El Método A se desarrolló para separar el diastereómero Ejemplo 361 del Ejemplo 269. Los tiempos de retención del Ejemplo 361 del Ejemplo 269 son 15,7 minutos y 11,5 minutos respectivamente. Las condiciones cromatográficas se describen en la Tabla B1.

Tabla B1

55	Columna	Phenomenex Cellulose 3 (250 mm, 4,6 mm, 5 micras)
	Fase móvil	89,9% de hexano/10% de etanol/0,1% de dietilamina (premezclada)
	Tasa de flujo	1 ml/min
60	Tiempo de ejecución	30 min
	Longitud de onda de detección	247 nm
	Cuantificación	Ratio de área pico

[0565] Se desarrolló el Método B para separar el diastereómero Ejemplo 362 del Ejemplo 269. Los tiempos de retención del Ejemplo 362 del Ejemplo 269 son 26,4 min y 21,7 min respectivamente. Las condiciones cromatográficas se describen en la Tabla B2.

Tabla B2

5	Columna	Phenomenex Celulosa 4 (250 mm, 4,6 mm, 5 micras)
	Fase móvil	84,9% de hexano/15% de etanol/0,1% de dietilamina (premezclada)
	Tasa de flujo	1 ml/min
	Tiempo de ejecución	40 min
	Longitud de onda de detección	247 nm
10	Cuantificación	Ratio de área pico

[0566] El método C se desarrolló para separar los tres estereoisómeros Ejemplo 361, Ejemplo 362 y Ejemplo 363 del Ejemplo 269. Los estereoisómeros Ejemplo 361, Ejemplo 362 y Ejemplo 363 eluyen en el tiempo de retención 12,9 minutos como una banda ancha mientras que el Ejemplo 269 eluye en retención tiempo 14,3 min. Una estimación del nivel del enantiómero, Ejemplo 363, puede hacerse mediante una combinación de datos de los Métodos A, B y C. Las condiciones cromatográficas se describen en la Tabla B3.

Tabla B3

20	Columna	Phenomenex Cellulose 1 (250 mm, 4,6 mm, 5 micras)
	Fase móvil	88% de hexanos, 12% de etanol (conatinas 0,1% de dietilamina)
	Tasa de flujo	1 ml/min
	Tiempo de ejecución	25 min
25	Longitud de onda de detección	247 nm
	Cuantificación	Ratio de área pico

Ejemplo A1: Ensayo de enzima PI3K

[0567] Kit de ensayo luminiscente de PI3-quinasa que incluye sustrato de lípido quinasa, D-mio-fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PtdIns (4,5) P2) D (+)-sn-1,2-La proteína detectora de di-O-octanoilglicerilo, 3-O-fosfo enlazada (PIP2), biotinilada I (1,3,4,5) P4, PI (3,4,5) P3 se adquiere de Echelon Biosciences (Salt Lake City, UTAH). El kit de detección AlphaScreen™ GST que incluye perlas donantes yceptoras se adquirió de PerkinElmer Life Sciences (Waltham, MA). PI3Kδ (p110δ/p85α) se compra de Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, HEPES y CHAPS se adquieren de SigmaAldrich (St. Louis, MO).

Ensayo AlphaScreen™ para PI3Kδ

[0568] La reacción de la quinasa se lleva a cabo en una placa REMP de 384 pocillos de Thermo Fisher Scientific en un volumen final de 40 µL. Los inhibidores se diluyen primero en serie en DMSO y se agregan a los pocillos de la placa antes de la adición de otros componentes de reacción. La concentración final de DMSO en el ensayo es del 2%. Los ensayos de PI3K se llevan a cabo a temperatura ambiente en HEPES 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 5 mM, NaCl 50 mM, DTT 5 mM y CHAPS 0,04%. Las reacciones se inician mediante la adición de ATP, la mezcla de reacción final consistió en 20 µm PIP2, 20 µm ATP, 1,2nM PI3Kδ se incuban durante 20 minutos. Luego se transfieren 10 µL de la mezcla de reacción a 5 µL 50nM biotinilado I (1,3,4,5) P4 en tampón de enfriamiento rápido: HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 10 mM, DTT 5 mM, 0,1% Tween-20, seguido de la adición de 10 µL de perlas de receptor y receptor AlphaScreen™ suspendidas en tampón de enfriamiento rápido que contiene 25nM de proteína detectora de PI (3,4,5) P3. La concentración final de las perlas donantes yceptoras es de 20 mg/ml. Después del sellado de la placa, las placas se incuban en un lugar oscuro a temperatura ambiente durante 2 horas. La actividad del producto se determina en el lector de microplacas Fusion-alpha (PerkinElmer). La determinación de CI₅₀ se realiza ajustando la curva de porcentaje de actividad de control frente al logaritmo de la concentración de inhibidor usando el software GraphPad Prism 3,0.

Ejemplo A2: Ensayo de enzima PI3K

[0569] Materiales: El sustrato de lípido quinasa, fosfofositol-4,5-bisfosfato (PIP2), se adquiere de Echelon Biosciences (Salt) Lake City, UT). Las isoformas PI3K α, β, δ y γ se adquieren de Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, MOPS y CHAPS se adquieren de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

[0570] La reacción de la quinasa se lleva a cabo en una placa de fondo transparente de 96 pocillos de Thermo Fisher Scientific en un volumen final de 24 µL. Los inhibidores se diluyen primero en serie en DMSO y se agregan a los pocillos de la placa antes de la adición de otros componentes de reacción. La concentración final de DMSO en el ensayo es del 0,5%. Los ensayos de PI3K se llevan a cabo a temperatura ambiente en MOPS 20 mM, pH 6,7, MgCl₂ 10 mM, DTT 5 mM y CHAPS 0,03%. La mezcla de reacción se prepara con PIP2 50 µm, quinasa y concentración

variable de inhibidores. Las reacciones se inician mediante la adición de ATP que contiene 2,2 μCi [γ - ^{33}P]ATP a una concentración final de 1000 μM . La concentración final de las isoformas PI3K α , β , δ y γ en el ensayo fueron 1,3, 9,4, 2,9 y 10,8 nM, respectivamente. Las reacciones se incuban durante 180 minutos y se finalizan mediante la adición de 100 μl de fosfato de potasio 1 M pH 8,0, tampón de temple EDTA 30 mM. Luego se transfiere una alícuota de 100 μL de la solución de reacción a una placa de filtro PVDF de 0,45 μm Millipore MultiScreen IP de 96 pocillos (la placa de filtro se humedece previamente con 200 μL de etanol al 100%, agua destilada y fosfato de potasio 1 M pH 8,0, respectivamente). La placa del filtro se aspira en un colector Millipore al vacío y se lava con 18 X 200 μL de tampón de lavado que contiene fosfato de potasio 1 M pH 8,0 y ATP 1 mM. Después de secar por aspiración y transferencia, la placa se seca al aire en una incubadora a 37°C durante la noche. El adaptador Packard TopCount (Millipore) se une a la placa seguido de la adición de 120 μL de cóctel de centelleo Microscint 20 (Perkin Elmer) en cada pocillo. Después del sellado de la placa, la radiactividad del producto se determina por centelleo contando con Topcount (Perkin-Elmer). La determinación de CI_{50} se realiza ajustando la curva de porcentaje de actividad de control frente al logaritmo de la concentración de inhibidor usando el software GraphPad Prism 3,0.

15 Ejemplo A3: Ensayo de proximidad de centelleo de PI3K δ

Materiales

20 **[0571]** [γ - ^{33}P]ATP (10 mCi/mL) se adquirió de Perkin-Elmer (Waltham, MA). Sustrato de lípido quinasa, D-miofosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PtdIns(4,5)P₂)D (+)-sn-1,2-di-O-octanóilglicerilo, 3-O-fosfo enlazado (PIP₂), CAS 204858 -53-7, fue comprado de Echelon Biosciences (Salt Lake City, UT). PI3K δ (p110 δ /p85 α) se adquirió de Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, MOPS y CHAPS se compraron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Los granos de centelleo de germen de trigo (WGA) YSi SPA Scintillation Beads se adquirieron de GE Health Life Sciences (Piscataway, NJ).

25 **[0572]** La reacción de la quinasa se realizó en poliestireno de placa blanca de matriz de 384 pocillos de Thermo Fisher Scientific en un volumen final de 25 μL . Los inhibidores se diluyeron primero en serie en DMSO y se añadieron a los pocillos de la placa antes de la adición de otros componentes de reacción. La concentración final de DMSO en el ensayo fue del 0,5%. Los ensayos de PI3K se llevaron a cabo a temperatura ambiente en MOPS 20 mM, pH 6,7, MgCl₂ 10 mM, DTT 5 mM y CHAPS 0,03%. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de ATP, la mezcla de reacción final consistió en 20 μM de PIP₂, 20 μM de ATP, 0,2 μCi [γ - ^{33}P] ATP, 4 nM PI3K δ . Las reacciones se incubaron durante 210 minutos y se terminaron mediante la adición de 40 μl de perlas de SPA suspendidas en tampón de temple: fosfato de potasio 150 mM pH 8,0, glicerol al 20%. EDTA 25 mM, ATP 400 μM . La concentración final de perlas de SPA fue de 1,0 mg/ml. Después del sellado de la placa, las placas se agitaron durante la noche a temperatura ambiente y se centrifugaron a 1800 rpm durante 10 minutos, la radiactividad del producto se determinó por centelleo contando con Topcount (Perkin-Elmer). La determinación de CI_{50} se realizó mediante el ajuste de la curva de actividad de control por ciento frente al log de la concentración de inhibidor usando el software GraphPad Prism 3,0. Los datos de CI_{50} para los Ejemplos se presentan en la Tabla 2 según lo determinado por el Ensayo A3. Los datos de CI_{50} para los Ejemplos 361 y 363 se muestran en la Tabla 3 según lo determinado por el Ensayo A2.

Tabla 2

Ejemplo nº	PI3K δ SPA CI_{50} (nM)*
1	+
2	+
3	+
4	+
5	+
6	+
7	+
8	+
9	+
10	+
11	+
13	+
14	+
16	+
17	+
18	+
19	+
20 (1 ^{er} pico)	+
20 (2 ^o pico)	+++
21	+

(Continuación)

Ejemplo nº	PI3Kδ SPA CI ₅₀ (nM)*
22	+
23	+
24	+
40	++
41	+++
43	+
44	+
65	+
66	+
67 (primer pico)	+
68 (primer pico)	+
71	+
72	+
94	+
95	+
96	+
99	+
102	+
104	+
105	+
108	+
110	+
113	+
115	+
118	+
121	+
139 (primer pico)	+
140	+
141	+
149	+
156	+
158	+
159	+
161	+
163	+
164	+
166	+
167	+
168	+
169	+
183	+
184	+
188	+
189	+
192	++
195	+
200	+
203	+
208	+
209	++
212	+
213	+
219	+
220	+
236	+

(Continuación)

Ejemplo nº	PI3Kδ SPA CI ₅₀ (nM)*
237	+
239	+
247	+
261	+
262	+
268	+
269	+
272	+
273	+
281	+
285	+
289	+
292	+
293	+
296	+
298 (1 ^{er} pico)	+
307	+
315	+
316	+
318	+
319	+
320	+
321 (1 ^{er} pico)	+
322 (1 ^{er} pico)	+
310	+
311	+
323 (1 ^{er} pico)	+
323 (2 ^o pico)	+
323 (3 rd pico)	+++
323 (4 ^o pico)	+
324 (1 ^{er} pico)	+++
324 (2 ^o pico)	+
325	+
345	+++
346	+
347	+
348	+++
349	+
350	+++++
351	+++
352	+
353	+++++
354	+
355	+++
356	+++
357	+
358	+++++
362	+

Tabla 3

Ejemplo nº	PI3Kδ CI ₅₀ (nM)*
361	+++++
363	+++
* símbolos de columna (para las Tablas 2 y 3): + se refiere a ≤ 10 nm ++ se refiere a > 10 nm a 50 nm +++ se refiere a > 50 nm a 200 nm ++++ se refiere a > 200 nm a 500 nm +++++ se refiere a > 500 nm	

Ejemplo B1: Ensayo de proliferación de células B

[0573] Para adquirir células B, las PBMC humanas se aíslan de la sangre periférica de donantes normales libres de fármacos por centrifugación de gradiente de densidad estándar en Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, Piscataway, NJ) e incubada con microperlas anti-CD 19 (Miltenyi Biotech, Auburn, CA). Luego, las células B se purifican por inmunoclasificación positiva utilizando un autoMacs (Miltenyi Biotech) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

[0574] Las células B purificadas (2 x 10⁵/pocillo/200 µL) se cultivan en placas de unión ultra-baja de 96 pocillos (Corning, Corning, NY) en RPMI1640, 10% de FBS y de cabra F(ab')₂ IgM antihumana (10 µg/ml) (Invitrogen, Carlsbad, CA) en presencia de diferentes cantidades de compuestos de prueba durante tres días. Luego se agrega [³H]-timidina (1 µCi/pocillo) (PerkinElmer, Boston, MA) en PBS a los cultivos de células B durante 12 horas adicionales antes de que la radiactividad incorporada se separe por filtración con agua a través de filtros GF/B (Packard Bioscience, Meriden, CT) y medida por recuento de centelleo líquido con un TopCount (Packard Bioscience).

Ejemplo B2: Ensayo de proliferación celular Pfeiffer

[0575] La línea celular Pfeiffer (linfoma difuso de células B grandes) se compra de ATCC (Manassas, VA) y se mantiene en el medio de cultivo recomendado (RPMI y FBS al 10%). Para medir la actividad anti-proliferación de los compuestos, las células Pfeiffer se colocan en placas con el medio de cultivo (2X10³ células/pocillo/por 200 µL) en placas de unión ultra-baja de 96 pocillos (Corning, Corning, NY), en la presencia o ausencia de un rango de concentración de compuestos de prueba. Después de 3-4 días, se agrega [³H]-timidina (1 µCi/pocillo) (PerkinElmer, Boston, MA) en PBS al cultivo celular durante 12 horas adicionales antes de que la radiactividad incorporada se separe por filtración con agua a través de filtros GF/B (Packard Bioscience, Meriden, CT) y medidos por recuento de centelleo líquido con un TopCount (Packard Bioscience). Los datos de CI₅₀ para compuestos seleccionados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4

Ejemplo nº	Pfeiffer CI ₅₀ (nM) *
67 (primer pico)	+
68 (primer pico)	+
96	+
102	+
104	++
121	++
139 (primer pico)	+
140	+
149	+
163	++
167	+
195	+
200	+
213	+
219	+
220	+
262	+
268	+
269	+
315	+
354	+

(Continuación)

Ejemplo nº	Pfeiffer CI ₅₀ (nM) *
357	+
346	+
347	+
349	+
* símbolos de columna: + se refiere a ≤ 10 nm ++ se refiere a > 10 nm a 50 nm	

Ejemplo C: Ensayo de fosforilación de Akt

[0576] Las células de Ramos (linfocito B del linfoma de Burkitts) se obtienen de ATCC (Manassas, VA) y se mantienen en RPMI1640 y 10% FBS. Las células (3×10^7 células/tubo/3 ml en RPMI) se incuban con diferentes cantidades de compuestos de prueba durante 2 horas a 37°C y luego se estimulan con IgM antihumana de cabra F(ab')₂ (5 µg/mL) (Invitrogen) durante 17 minutos en un baño de agua a 37°C. Las células estimuladas se centrifugan a 4°C con centrifugación y los extractos de células enteras se preparan usando 300 µl de tampón de lisis (Cell Signaling Technology, Danvers, MA). Los lisados resultantes son sonicados y se recogen los sobrenadantes. El nivel de fosforilación de Akt en los sobrenadantes se analiza mediante el uso de kits ELISA sandwich de fosfo-Akt1 (Ser473) PathScan (Tecnología de Señalización Celular) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Ejemplo D: Modelo Pfeiffer de linfoma*Métodos:*

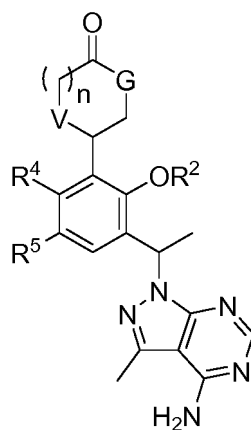
[0577] Se inocularon ratones SCID hembra (de 5 a 8 semanas de edad, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) con 1×10^7 células tumorales (Pfeiffer, ATCC nº CRL-2632, Manassas, VA) y matrigel (BD Biosciences nº 354234) en 0,2 ml de solución salina estéril. La inoculación se realizó por vía subcutánea en el flanco. Se recogieron fragmentos de tejido tumoral (aproximadamente 3 mm³ x mm) 3 a 6 semanas después de la inoculación de células cultivadas y se implantaron por vía subcutánea en lugar de la inoculación celular. Los fragmentos de tejido se implantaron como piezas sólidas con pinzas de punta roma. El tratamiento de ratones con tumor se inició 15 a 25 días después de la inoculación del tumor, dependiendo del tamaño del tumor. Los animales se clasificaron para obtener volúmenes tumorales medios aproximadamente equivalentes en cada grupo. El volumen tumoral medio mínimo en todos los grupos fue de 150 mm³ el primer día de tratamiento y los grupos consistieron en 7 animales. El agente terapéutico experimental, Ejemplo 347, se administró a ratones por vía oral (PO). La frecuencia del tratamiento fue de 2 veces al día durante un mínimo de 14 días para la eficacia. El tamaño de los tumores subcutáneos se midió de 2 a 3 veces por semana usando un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó mediante midiendo el tumor en 2 dimensiones y utilizando la ecuación: Volumen = [Longitud x (Ancho 2)]/2; donde el número mayor era la longitud y el ancho del número menor. Si se formaron múltiples tumores, el volumen final fue la suma de los tumores individuales sujetos a la misma ecuación: por ejemplo, 2 tumores; Volumen = {[L1 x (W1)2]/2} + {[L2 x (W2)2]/2}. Los efectos sobre el crecimiento tumoral se informaron como porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral (% TGI). El porcentaje de TGI se calculó con la ecuación: (1-(Tx vol./Control vol.))*100, donde el volumen de control fue el vehículo o el volumen tumoral no tratado en un día determinado, y el volumen Tx fue cualquier volumen tumoral del grupo de tratamiento mismo día. Las diferencias estadísticas entre el tratamiento y los controles del vehículo se evaluaron mediante ANOVA: prueba de factor único.

Resultados:

[0578] El ejemplo 347 se evaluó como un agente único en el modelo de xenoinjerto de tumor humano Pfeiffer de linfoma difuso de células grandes, un subtipo de NHL. Se demostró que las células cancerosas de Pfeiffer son sensibles a los efectos antiproliferativos del Ejemplo 347 *in vitro*. Por lo tanto, se estableció un modelo tumoral basado en la inoculación subcutánea de células tumorales en ratones SCID inmunocomprometidos y los ratones portadores de tumor recibieron dosis orales de vehículo dos veces al día o Ejemplo 347 a 0,3, 1, 3 o 10 mg/kg durante 14 días. El tratamiento del Ejemplo 347 inhibió el crecimiento tumoral en 22%, 24%, 36% y 58% (porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral) con dosis crecientes (Figura 2).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para usar en un método para tratar la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Behçet, síndrome de Cogan, arteritis de células gigantes, polimialgia reumática (PMR), arteritis de Takayasu, enfermedad de Buerger (tromboangiitis obliterante), vasculitis del sistema nervioso central, enfermedad de Kawasaki, poliarteritis nodosa, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis mixta por crioglobulinemia (inducida por el virus de la hepatitis C o esencial), púrpura de Henoch-Schönlein (HSP), vasculitis por hipersensibilidad, poliangeítis microscópica, granulomatosis de Wegener, anti-vasculitis sistémica asociada a anticuerpos de citoplasma de neutrófilos (ANCA), pénfigo, nefropatía membranosa, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia de células pilosas, linfoma de células del manto, linfoma linfocítico pequeño, linfoma folicular, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de zona marginal extranodal, linfoma difuso de células B grandes (ABC) o el linfoma difuso de células B grandes del centro germinal (GCB) en un paciente, en donde el compuesto es de Fórmula IV:



IV

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

- G es NH, n es 1 y V es O; o
- G es NH, n es 0 y V es CH₂; o
- G es O, n es 0 y V es NH;
- R² es C₁₋₆ alquilo o C₁₋₆ haloalquilo;
- R⁴ es halo, OH, CN, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, o C₁₋₄ haloalcoxi;
- R⁵ es halo, OH, CN, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, o C₁₋₄ haloalcoxi.

2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde:

- a) R² es C₁₋₃ alquilo o C₁₋₃ fluoroalquilo; o
- b) R² es metilo, etilo o 2,2-difluorometilo; o
- c) R² es metilo; o
- d) R² es etilo.

3. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde:

- a) R⁴ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo; o
- b) R⁴ es F, Cl, CN o metilo; o
- c) R⁴ es F; o
- d) R⁴ es Cl; o
- e) R⁴ es CN; o
- f) R⁴ es metilo.

4. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:

- a) R⁵ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo; o
- b) R⁵ es Cl, CN, o metilo; o
- c) R⁵ es Cl; o
- d) R⁵ es CN; o
- e) R⁵ es metilo.

5. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde:

R² es C₁₋₃ alquilo o C₁₋₃ fluoroalquilo;
 R⁴ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo; y
 R⁵ es halo, CN, o C₁₋₃ alquilo.

5

6. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde:

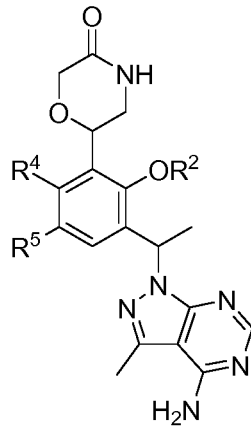
R² es metilo, etilo, o 2,2-difluorometilo;
 R⁴ es F, Cl, CN, o metilo; y
 R⁵ es Cl, CN, o metilo;

10

7. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que:

a) el compuesto es un compuesto de Fórmula IVa:

15



20

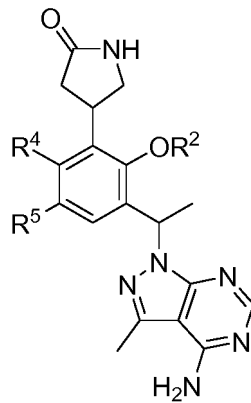
25

30

IVa

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o
 b) el compuesto es un compuesto de Fórmula IVb:

35



40

45

50

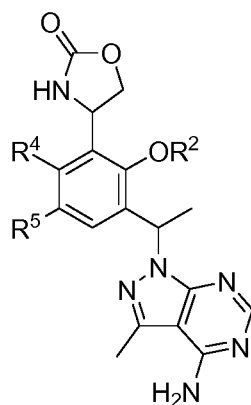
IVb

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o
 c) el compuesto es un compuesto de Fórmula IVc:

55

60

65



IVc

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de:

4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona;
 4-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-6-cloro-3-etoxi-2-(5-oxopirrolidina-3-ilo)benzonitrilo; y
 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}-1,3-oxazolidina-2-ona;

o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los mencionados anteriormente.

9. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el método es un método para tratar la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) seleccionada de PTI recaída y PIC refractaria.

10. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método es un método para tratar el pénfigo.

11. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el método es un método para tratar la anemia hemolítica autoinmune.

12. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el método es un método para tratar el linfoma de células del manto.

13. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método es un método para tratar el linfoma folicular.

14. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el método es un método para tratar el linfoma de la zona marginal extranodal.

15. El compuesto para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el compuesto es 4-{3-[1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

16. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el compuesto es (R)-4-{3-[(R)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

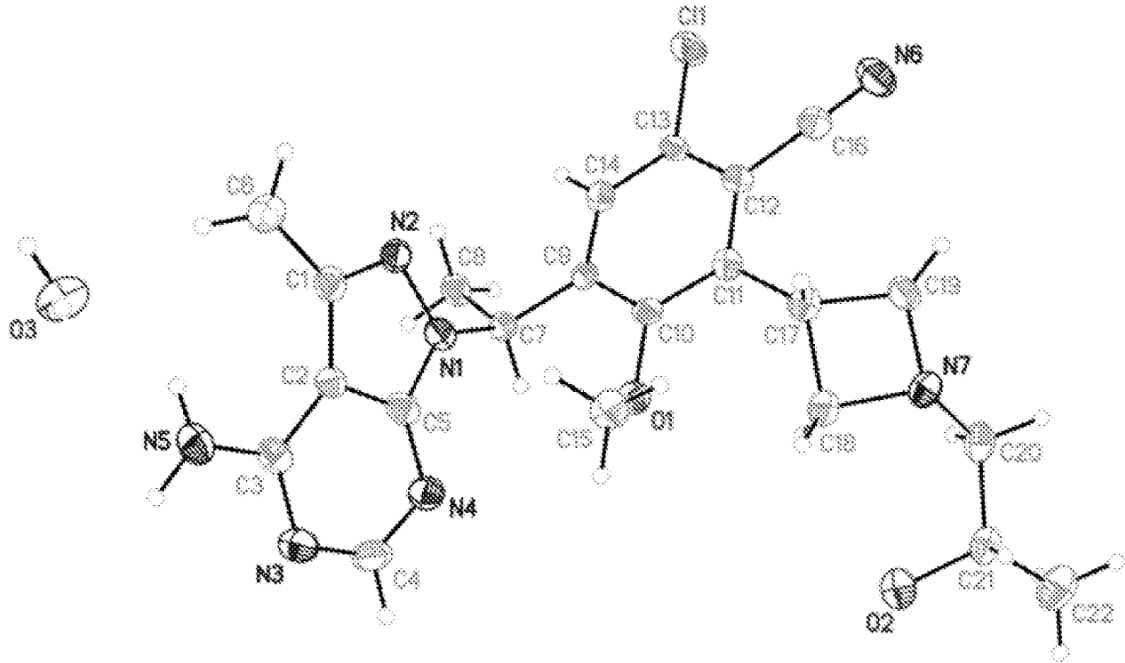
17. El compuesto para su uso según la reivindicación 15, en el que el compuesto es (R)-4-{3-[(S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

18. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el compuesto es (S)-4-{3-[(R)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

19. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el compuesto es (S)-4-{3-[(S)-1-(4-amino-3-metilo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-ilo)etilo]-5-cloro-2-etoxi-6-fluorofenilo}pirrolidina-2-ona, o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo.

FIG. 1



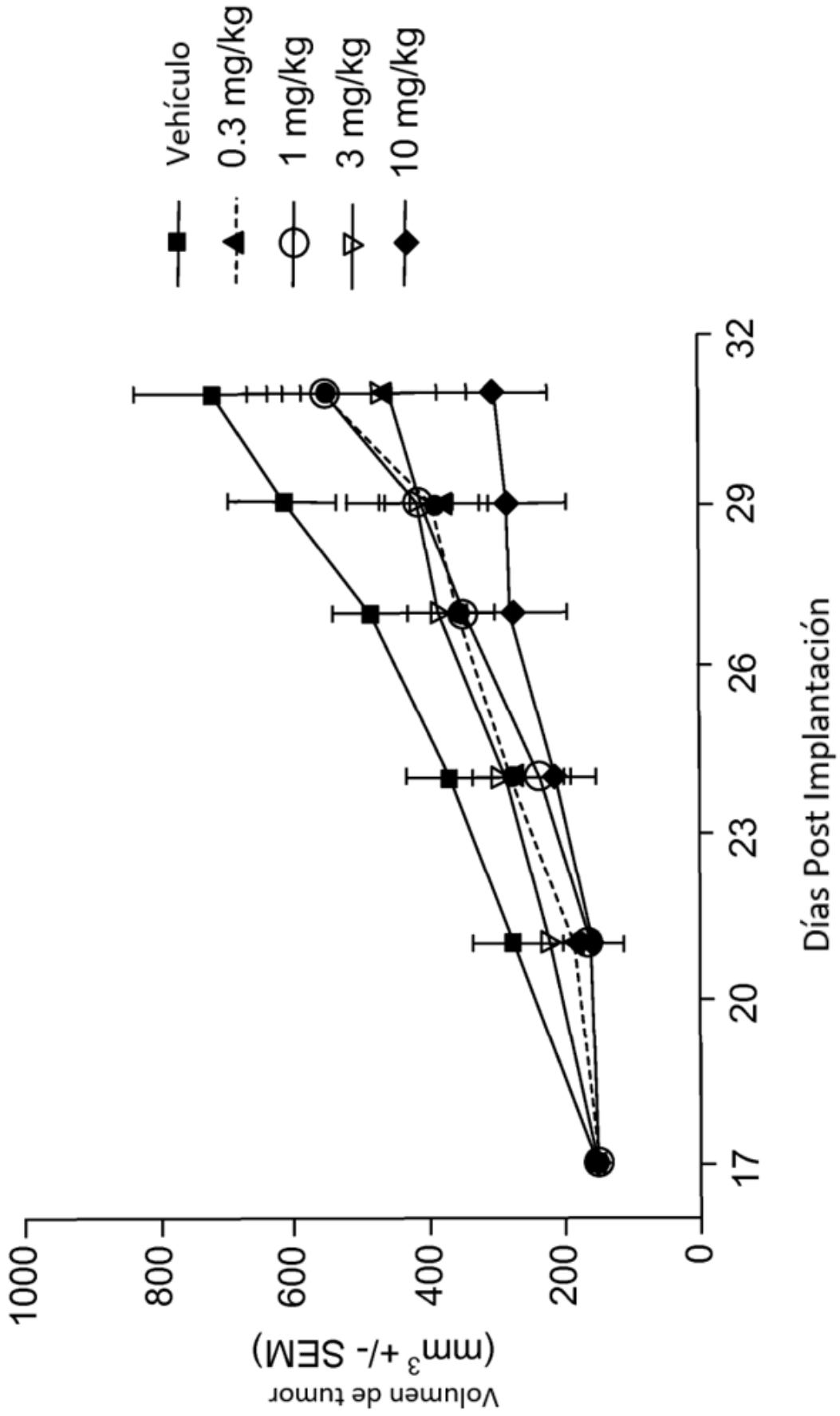


FIG. 2