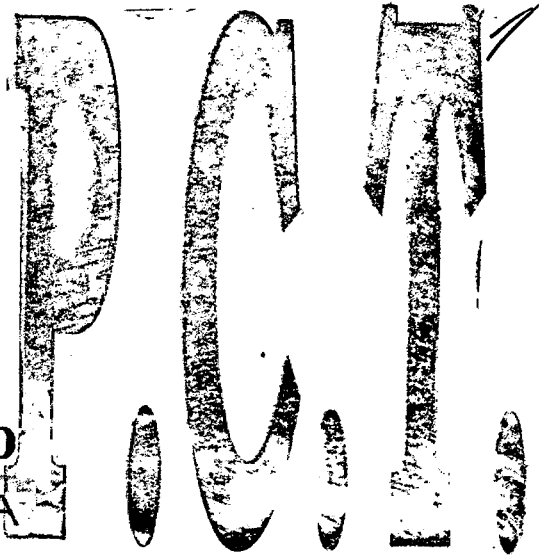




SOLICITUD
PATENTE DE INV

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-093206- -00000-0000

Fecha: 2014-04-30 16:54:25 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 45

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **“COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS
COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK”**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **C07D 471/04**

71. SOLICITANTE **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**

DOMICILIO **BASILEA, SUIZA.**

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. **30 ABR 2014**

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 14-093206- -00000-0000 Fecha: 2014-04-30 16:54:25 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 45
---	--

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL –PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/063198	Fecha 02/11/12
Publicación Internacional No.		WO 2013/067277 A1	Fecha 10/05/13
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCIÓN:		
"COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK"			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP		
C07D 471/04			
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		IDENTIFICACIÓN	TIPO
4.	F. HOFFMANN–LA ROCHE AG		
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basilea, Suiza.	No. TELÉFONO 3264270
CIUDAD		Basilea	E-MAIL notificacionespatentes@lloredacamacho.com
DEPARTAMENTO/ESTADO			NACIONALIDAD O LUGAR DE SUIZA
PAÍS DE RESIDENCIA		Suiza	CONSTITUCIÓN
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. CRAWFORD		James John	
2. YOUNG		Wendy B.	
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Estados Unidos de América	California	South San Francisco	1. c/o Genentech, Inc., 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080, Estados Unidos de América.
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	(74) ☒ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LLOREDICAURTE		ALICIA	C.C 39.690.713 T.P.53.215
DIRECCIÓN		Calle 72 No 5-83 Piso 5to	No. TELÉFONO 3264270
CIUDAD		Bogotá	E-MAIL notificacionespatentes@lloredacamacho.com
PAÍS		Colombia	No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO						
	(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)			
	1. Estados Unidos de América	US	61/555,395	2011/11/03			
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS						
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.							
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES						
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.							
13	REDUCCIÓN DE TASAS						
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.							
<table border="1"> <tr> <td> Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. </td> <td> Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias. </td> <td> Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar </td> </tr> </table>					Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar					
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO						
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de Internet.							
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 14-0012373	Fecha 03-02-2014				
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL						
<i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>  ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante C.C. 39.690.713 T.P.53.215 Apoderado							
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD						
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: 162 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 21 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 11 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☒ Arte final 12 x 12. 8. ☒ Anexo formato digital.		Documentación Jurídica 9. ☒ Poderes, si fuera el caso. 10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica. 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.					

•

VER ANEXO CD

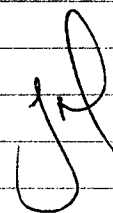
•

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: ____/____/____ AAAA MM DD 2014 4 20	
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		Recorrido: 4	
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-93206-	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
~~7~~	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 11 ARCHIVOS: 11 EN FORMATO PDF, LOS CUALES FUERON PROCESADOS. EL CD SE ENCUENTRA EN EL FOLIO (3)
--



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0012373

Bogotá D.C., Febrero 03 de 2014 - 16:44:35

RECIBIDO DE : LLORED A & CIA. S.A.

NI 830.022.145

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	12365	03/02/2014		344.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133687	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133688	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133689	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133690	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133691	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133692	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133693	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133694	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133695	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133696	24/12/2013		505.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO

1 50005-01-01 SOLICITUDES

CONCEPTO

1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN

Vr.UNDITARIO

Vr.CONCEPTO

515.000.00

515.000.00

\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-093206- -00000-0000

Fecha: 2014-04-30 16:54:25

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 15

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Febrero 3 de 2014 - 16:44:38



No. 14-093206- -00000-0000

Fecha: 2014-04-30 16:54:25 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4



LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE - NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

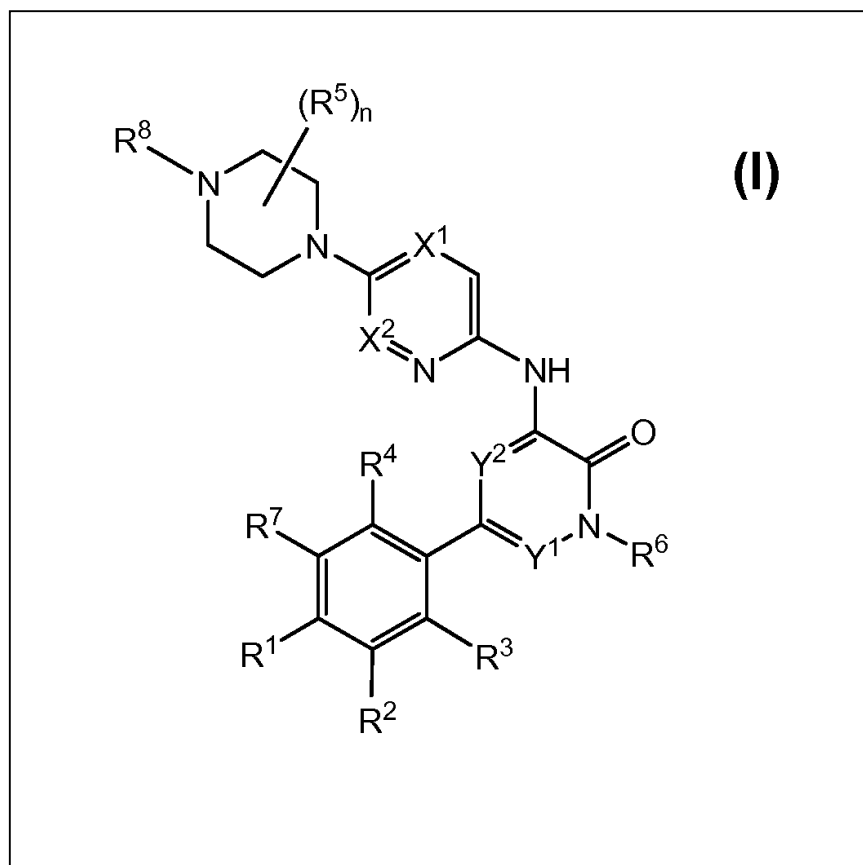
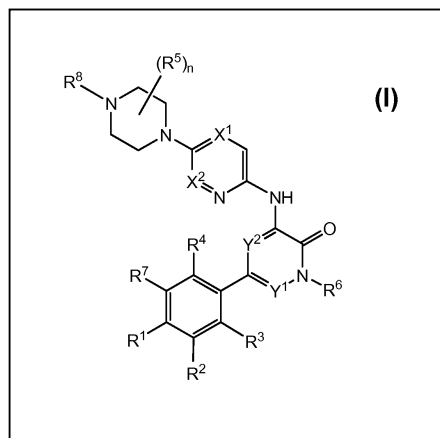
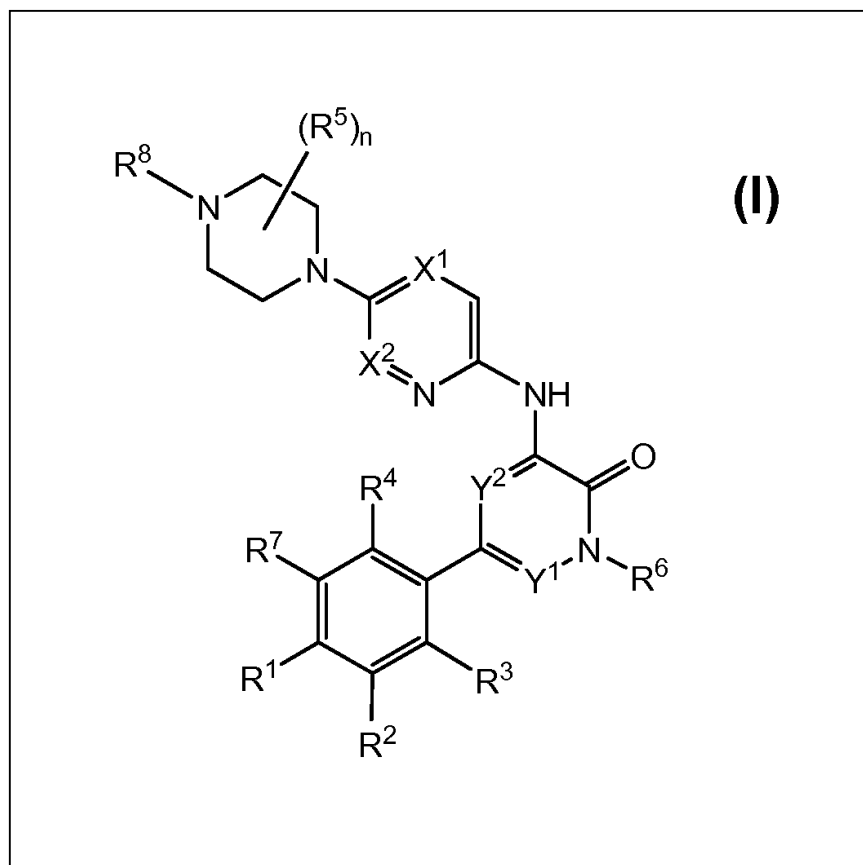
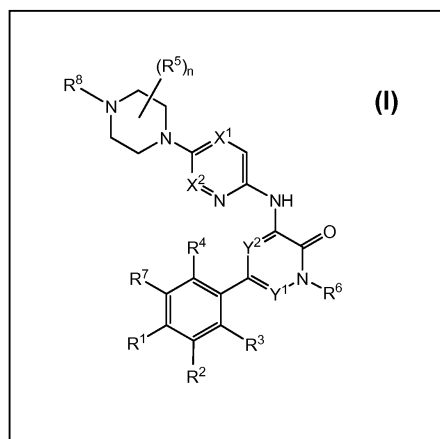
- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

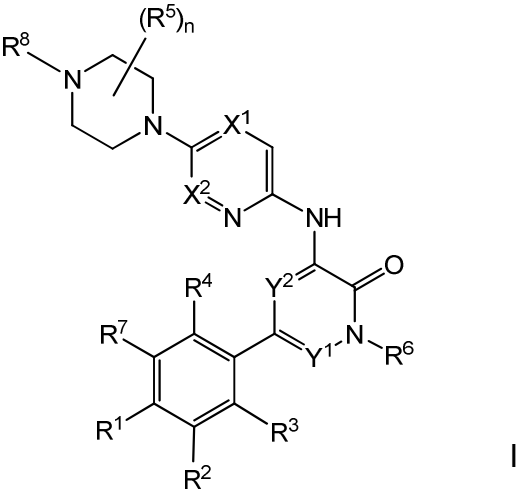
- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐



COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA
ACTIVIDAD BTK

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Se proporcionan los compuestos de piperazina alquilados de la
Fórmula I incluyendo sus estereoisómeros, tautómeros y sales farmacéuticamente
aceptables, útiles para inhibir Btk cinasa y para tratar trastornos inmunes tales
como la inflamación mediada por Btk cinasa. Se describen métodos para utilizar
los compuestos de la Fórmula I para el diagnóstico y el tratamiento in vitro, in situ
e in vivo de tales trastornos en células de mamífero, o condiciones patológicas
asociadas.



SECTOR: Química Farmacéutica. Compuestos químicos sintéticos con actividad
anti-inflamatoria al inhibir la actividad de la tirosina quinasa de Bruton.

COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud no provisional presentada bajo 37 CFR §1.53(b), reivindica el beneficio bajo 35 USC §119(e) de la Solicitud Provisional de E.U. Serie No. 61/555,395 presentada el 3 de noviembre de 2011, que se incorpora mediante la referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

10 La invención se refiere en general a compuestos para tratar trastornos mediados por la tirosina cinasa de Bruton (Btk) incluyendo inflamación, inmunológicos y cáncer y, más específicamente, a compuestos que inhiben la actividad de Btk. La invención también se refiere a métodos para utilizar los compuestos para diagnóstico o tratamiento in vitro, in situ e in vivo de células de
15 mamífero, o condiciones patológicas asociadas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

 Las proteínas cinasas, la familia más grande de enzimas humanas, abarca mucho más de 500 proteínas. La tirosina cinasa de Bruton (Btk) es un miembro de la familia Tec de tirosina cinasas y es un regulador del desarrollo
20 temprano de la célula B así como de la activación, señalización y supervivencia de células B maduras.

 La señalización de células B a través del receptor de células B (BCR) puede conducir a un amplio rango de resultados biológicos, que a su vez dependen de la etapa de desarrollo de la célula B. La magnitud y la duración de
25 las señales BCR debe regularse de manera precisa. La señalización aberrante mediada por BCR puede ocasionar una activación desregulada de las células B y/o la formación de auto-anticuerpos patógenos que conduce a múltiples enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias. La mutación de Btk en humanos da como resultado agammaglobulinemia vinculada a X (XLA). Esta enfermedad se
30 asocia con maduración dañada de las células B, producción disminuida de inmunoglobulinas, respuestas inmunes comprometidas independientes de la célula T y marcada atenuación de la señal de calcio sostenida a la estimulación por el BCR. Se ha establecido la evidencia del papel de Btk en trastornos alérgicos y/o

enfermedad autoinmunes y/o enfermedad inflamatorias en modelos de ratón deficientes en Btk. Por ejemplo, en modelos preclínicos murinos estándar de lupus eritematoso sistémico (SLE), la deficiencia de Btk ha demostrado dar como resultado una marcada disminución de la progresión de la enfermedad. Además, los ratones deficientes en Btk pueden ser también resistentes al desarrollo de la artritis inducida por colágeno y pueden ser menos susceptibles a la artritis inducida por estafilococo. Un gran cuerpo de evidencias soporta el papel de las células B y del sistema inmune humoral en la patogénesis de enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias. Los terapéuticos a base de proteínas (tales como rituxan) desarrollados para agotar las células B, representan un procedimiento para el tratamiento de numerosas enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias. Debido al papel de Btk en la activación de la célula B, los inhibidores de Btk pueden ser útiles como inhibidores de la actividad patógena mediada por las células B (tal como la producción de auto-anticuerpos). Btk también se expresa en osteoclastos, mastocitos y monocitos y ha demostrado ser importante para la función de estas células. Por ejemplo, la deficiencia de Btk en ratones se asocia con la activación dañada de mastocitos mediada por IgE (marcada disminución de la liberación de TNF-alfa y otras citosinas inflamatorias), y la deficiencia de Btk en humanos se asocia con una producción grandemente reducida de TNF-alfa por los monocitos activados.

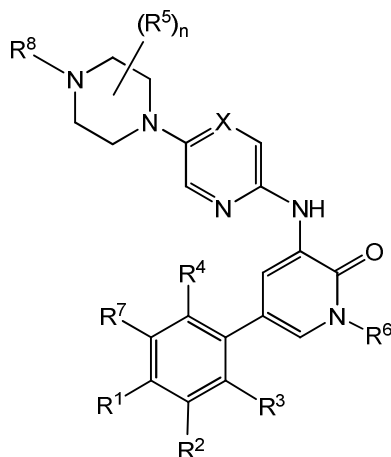
Por tanto, la inhibición de la actividad de Btk puede ser útil para el tratamiento de trastornos alérgicos y/o enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias tales como: SLE, artritis reumatoide, vasculitis múltiple, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), miastenia gravis, rinitis alérgica, y asma (Di Paolo et al (2011) Nature Chem. Biol. 7(1):41-50; Liu et al (2011) Jour. of Pharm. and Exper. Ther. 338(1):154-163). Además, se ha reportado que Btk juega un papel en la apoptosis; por tanto, la inhibición de la actividad de Btk puede ser útil para el cáncer, así como para el tratamiento de linfoma de células B, leucemia y otras malignidades hematológicas. Además, dado el papel de Btk en la función de osteoclasto, la inhibición de la actividad de Btk puede ser útil para el tratamiento de trastornos óseos tales como la osteoporosis. Se han reportado inhibidores de Btk específicos (Liu (2011) Drug Metab. and Disposition 39(10):1840-1849; US 7884108, WO 2010/056875; US 7405295; US 7393848; WO 2006/053121; US

7947835; US 2008/0139557; US 7838523; US 2008/0125417; US 2011/0118233; PCT/US2011/050034 "PYRIDINONES/PYRAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF" (Piridinonas/pirazinonas, método de preparación, y método de uso de las mismas, presentada el 31 de agosto de 2011; 5 PCT/US2011/050013 "PYRIDAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF" (Piridazinonas, método de preparación y método de uso de las mismas), presentada el 31 de agosto de 2011; US Ser. No. 13/102720 "PYRIDONE AND AZA-PYRIDONE COMPOUNDS AND METHODS OF USE" (Compuestos y métodos de uso de piridona y aza-piridona), presentada el 6 de 10 mayo de 2011).

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención se refiere en general a los compuestos de piridona piperazina alquilados de la Fórmula I con actividad de modulación de la tirosina cinasa de Bruton (Btk).

Los compuestos de la Fórmula I tienen las estructuras:



Incluyendo sus estereoisómeros, tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables. Los diversos sustituyentes se definen más 25 adelante en la presente.

Un aspecto de la invención es una composición farmacéutica comprendida de un compuesto de la Fórmula I y un vehículo, deslizante, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender además un segundo agente terapéutico.

Otro aspecto de la invención es un proceso para producir una 30 composición farmacéutica que comprende combinar un compuesto de la Fórmula I con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención incluye un método para tratar una enfermedad o

trastorno cuyo método comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula I a un paciente con una enfermedad o trastorno seleccionado de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endócrina y trastornos neurológicos, y mediados por tirosina cinasa de Bruton.

La invención incluye un equipo para tratar una condición mediada por tirosina cinasa de Bruton, que comprende: a) una primera composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula I; y b) instrucciones para su uso.

La invención incluye un compuesto de la Fórmula I para su uso como un medicamento, y para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endócrina y trastornos neurológicos, y mediados por tirosina cinasa de Bruton.

La invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula I en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endócrina y trastornos neurológicos, y en donde el medicamento media la tirosina cinasa de Bruton.

La invención incluye métodos para producir un compuesto de la Fórmula I.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la preparación de (S)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona 101, comenzando con el intermediario 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído 101a.

La Figura 2 muestra la preparación de (S)-5-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil]-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-6-ona 102, comenzando con el intermediario (S)-[4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)-piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil]metil acetato 102a.

La Figura 3 muestra la preparación de (2S)-10-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-[1-metil-5-({5-[2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridina-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-fenil]-4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-9-ona 103, comenzando con el intermediario (E)-etil 3-(2-cloro-4,4-dimetilciclopent-1-enil)acrilato 103a.

La Figura 4a muestra la preparación de 2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 104, comenzando con el intermediario (2R,5S)-ter-butil 2,5-dimetil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 104a.

La Figura 4b muestra la preparación de 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidro-pirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato 104o a partir de 3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 104j.

La Figura 5 muestra la preparación de (S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 105, comenzando con el intermediario (S)-2-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 105a.

La Figura 6 muestra la preparación de (S)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 106, comenzando con el intermediario (S)-4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 106a.

La Figura 7 muestra la preparación de (S)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 107, comenzando con el intermediario (S)-ter-butil 2-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 107a.

La Figura 8 muestra la preparación de (R)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-

2-(hidroximetil)-fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 108, comenzando con el intermediario (R)-ter-butil 2-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 108a.

La Figura 9 muestra la preparación de (R)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 109, comenzando con el intermediario (R)-ter-butil 3-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 109a.

La Figura 10 muestra la preparación de (S)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 110, comenzando con el intermediario (S)-5-bromo-3-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 110a.

La Figura 11 muestra la preparación de 2-(5-fluoro-3-(5-(5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 111, comenzando con el intermediario 1-ter-butil 2-metil 4-bencilpiperazina-1,2-dicarboxilato 111a.

La Figura 12 muestra la preparación de 2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 112, comenzando con el intermediario N,N-dibromobencenosulfonamida 112a.

La Figura 13 muestra la preparación de (S)-2-(7,7-difluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-4-fluoro-6-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)bencil acetato 113q comenzando con el intermediario (3S)-ter-butil 3-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 113a.

La Figura 14 muestra la preparación de 113o a partir del intermediario etil 1H-pirrol-2-carboxilato.

La Figura 15 muestra la preparación de 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-7-tia-10,11-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-1(8),2(6),11-trien-10-il}-4-fluorobenzaldehído 131i a partir del intermediario 3-metilciclopent-2-enona.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MODALIDADES EJEMPLARES

Ahora se hará referencia en detalle a ciertas modalidades de la invención, cuyos ejemplos se ilustran en las estructuras y fórmulas anexas. Aunque la invención se describirá en conjunción con las modalidades enumeradas, se entenderá que éstas no pretenden limitar la invención a esas modalidades. Por el contrario, la invención pretende cubrir todas las alternativas, modificaciones y equivalentes que puedan estar incluidos dentro del alcance de la presente invención como se define por las reivindicaciones. El experto en la técnica reconocerá muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente, que podrían utilizarse en la práctica de la presente invención. La presente invención no se limita en modo alguno a los métodos y materiales descritos. En caso de que una o más de la literatura, patentes y materiales similares incorporados difiera de o contradiga esta solicitud, incluyendo, pero sin limitarse a, los términos definidos, el uso de los términos, las técnicas descritas o lo similar, esta solicitud predomina. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por el de experiencia ordinaria en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente en la práctica o la prueba de la invención, se describen más adelante métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan mediante la referencia en su totalidad. La nomenclatura utilizada en esta solicitud se basa en la nomenclatura sistemática de la IUPAC, a menos que se indique de otra manera.

DEFINICIONES

Cuando se indique el número de sustituyentes, el término “uno o más” se refiere al rango desde un sustituyente hasta el número de sustitución más alto posible, i.e., el remplazo de un hidrógeno al remplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes. El término “sustituyente” denota un átomo o un grupo de átomos que remplazan un átomo de hidrógeno en la molécula de origen. El término “sustituido” denota que un grupo especificado contiene uno o más sustituyentes. Cuando cualquier grupo puede transportar múltiples sustituyentes y se proporciona una variedad de sustituyentes posibles, los sustituyentes se

seleccionan independientemente y no es necesario que sean el mismo. El término “no sustituido” significa que el grupo especificado no contiene sustituyentes. El término “opcionalmente sustituido” significa que el grupo especificado se encuentra no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo de sustituyentes posibles. Cuando se indica el número de sustituyentes, el término “uno o más” significa desde un sustituyente hasta el número de sustituciones más alto posible, i.e., el remplazo de un hidrógeno hasta el remplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes.

El término “alquilo” como se utiliza en la presente se refiere a un radical de hidrocarburo monovalente saturado de cadena lineal o ramificada de uno a doce átomos de carbono (C_1 - C_{12}), en donde el radical alquilo puede estar opcionalmente independientemente sustituido con uno o más de los sustituyentes descritos más adelante. En otra modalidad, cualquier radical alquilo es de uno a ocho átomos de carbono (C_1 - C_8), o de uno a seis átomos de carbono (C_1 - C_6). Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me, $-CH_3$), etilo (Et, $-CH_2CH_3$), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, $-CH(CH_3)_2$), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-metilo-1-propilo (i-Bu, i-butilo, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-metilo-2-propilo (t-Bu, t-butilo, $-C(CH_3)_3$), 1-pentilo (n-pentilo, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-pentilo ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-pentilo ($-CH(CH_2CH_3)_2$), 2-metilo-2-butilo ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-metilo-2-butilo ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-metilo-1-butilo ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-metilo-1-butilo ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-hexilo ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-hexilo ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-hexilo ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-metilo-2-pentilo ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-metilo-2-pentilo ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-metilo-2-pentilo ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-metilo-3-pentilo ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-metilo-3-pentilo ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-dimetilo-2-butilo ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$), 3,3-dimetilo-2-butilo ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$), 1-heptilo, 1-octilo, y lo similar.

El término “alquilenio” como se utiliza en la presente se refiere a un radical de hidrocarburo bivalente saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a doce átomos de carbono (C_1 - C_{12}), en donde el radical de alquilenio puede sustituirse opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos más adelante. En otra modalidad, un radical de alquilenio tiene de uno a

ocho átomos de carbono (C_1-C_8), o de uno a seis átomos de carbono (C_1-C_6). Ejemplos de grupos alquileo incluyen, pero no se limitan a, metileno ($-CH_2-$), etileno ($-CH_2CH_2-$), propileno ($-CH_2CH_2CH_2-$), y lo similar.

El término “alquenilo” se refiere a un radical de hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a ocho átomos de carbono (C_2-C_8) con al menos un sitio de insaturación, i.e., un enlace doble sp^2 de carbono-carbono, en donde el radical de alquenilo puede sustituirse opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente, e incluye radicales que tienen orientaciones “cis” y “trans”, o alternatively, orientaciones “E” y “Z”. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etenilo o vinilo ($-CH=CH_2$), alilo ($-CH_2CH=CH_2$), y lo similar.

El término “alquenileno” se refiere a un radical de hidrocarburo bivalente de cadena lineal o ramificada que tiene de dos a ocho átomos de carbono (C_2-C_8) con al menos un sitio de insaturación, i.e., un enlace doble sp^2 de carbono-carbono, en donde el radical de alquenileno puede sustituirse opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente, e incluye radicales que tienen orientaciones “cis” y “trans”, o alternatively, orientaciones “E” y “Z”. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etenileno o vinileno ($-CH=CH.$), alilo ($-CH_2CH=CH.$), y lo similar.

El término “alquinilo” se refiere a un radical de hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a ocho átomos de carbono (C_2-C_8) con al menos un sitio de insaturación, i.e., un enlace triple sp de carbono-carbono, en donde el radical de alquinilo puede sustituirse opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etinilo ($-CH\equiv CH$), propinilo (propargilo, $-CH_2CH\equiv CH$), y lo similar.

El término “alquinileno” se refiere a un radical de hidrocarburo bivalente de cadena lineal o ramificada que tiene de dos a ocho átomos de carbono (C_2-C_8) con al menos un sitio de insaturación, i.e., un enlace triple sp de carbono-carbono, en donde el radical de alquinileno puede sustituirse opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etinileno ($-CH\equiv C.$), propinileno (propargileno, $-CH_2CH\equiv C.$), y lo similar.

Los términos “carbociclo”, “carbociclilo”, “anillo carbocíclico” y “cicloalquilo” se refieren a un anillo monovalente no aromático, saturado o parcialmente insaturado que tiene de 3 a 12 átomos de carbono (C_3 - C_{12}) como un anillo monocíclico o de 7 a 12 átomos de carbono como un anillo bicíclico. Los carbociclos bicíclicos que tienen de 7 a 12 átomos pueden disponerse, por ejemplo, como un sistema [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6] biciclo, y los carbociclos bicíclicos que tienen 9 o 10 átomos de anillo pueden disponerse como un sistema [5,6] o [6,6] biciclo, o como sistemas de puente tales como biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, y biciclo[3.2.2]nonano. Los residuos espiro también se encuentran incluidos dentro del alcance de esta definición. Ejemplos de carbociclos monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, ciclohexadienilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo, ciclodecilo, cicloundecilo, ciclododecilo y lo similar. Los grupos carbociclilo se sustituyen opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente.

“Arilo” significa un radical de hidrocarburo monovalente aromático que tiene de 6 a 20 átomos de carbono (C_6 - C_{20}) derivado por el retiro de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático de origen. Algunos grupos arilo se representan en las estructuras ejemplares como “Ar”. Arilo incluye radicales bicíclicos que comprenden un anillo aromático fusionado a un anillo saturado, parcialmente insaturado o a un anillo carbocíclico aromático. Los grupos arilo típicos incluyen, pero no se limitan a, radicales derivados de benceno (fenilo), bencenos sustituidos, naftaleno, antraceno, bifenilo, indenilo, indanilo, 1,2-dihidronaftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, y lo similar. Los grupos arilo se sustituyen opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente.

“Arileno” significa un radical de hidrocarburo bivalente aromático que tiene de 6 a 20 átomos de carbono (C_6 - C_{20}) derivado del retiro de dos átomos de hidrógeno a partir de dos átomos de carbono de un sistema de anillo aromático de origen. Algunos grupos arileno se representan en las estructuras ejemplares como “Ar”. Arileno incluye radicales bicíclicos que comprenden un anillo aromático fusionado a un anillo saturado, parcialmente insaturado o a un anillo carbocíclico

aromático. Los grupos arileno típicos incluyen, pero no se limitan a, radicales derivados de benceno (fenileno), bencenos sustituidos, naftaleno, antraceno, bifenileno, indenileno, indanileno, 1,2-dihidronaftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, y lo similar. Los grupos arileno se sustituyen opcionalmente con uno o más de los

sustituyentes descritos en la presente.

Los términos “heterociclo”, “heterociclilo” y “anillo heterocíclico” se utilizan de manera intercambiable en la presente y se refieren a un radical carbocíclico saturado o parcialmente insaturado (i.e., que tiene uno o más enlaces dobles y/o triples dentro del anillo) que tiene de 3 a aproximadamente 20 átomos

de anillo en el cual al menos un átomo de anillo es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre, siendo los átomos de anillo restantes C, en donde uno o más de los átomos de anillo se sustituye opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos más adelante. Un heterociclo puede ser un monociclo que tiene de 3 a 7 miembros de anillo (de 2

a 6 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S) o un biciclo que tiene de 7 a 10 miembros de anillo (de 4 a 9 átomos de carbono y de 1 a 6 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S), por ejemplo: un sistema [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6] biciclo. Los heterociclos se describen en Paquette, Leo A.; “Principles of Modern Heterocyclic Chemistry” (Principios de química heterocíclica moderna) (W.A. Benjamin, New York, 1968), particularmente los capítulos 1, 3, 4, 6, 7, y 9; “The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs” (La química de los compuestos heterocíclicos, una serie de monografías) (John Wiley & Sons, New York, 1950 al presente), en particular los Volúmenes 13, 14, 16, 19, y 28; y J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. “Heterociclilo” incluye también radicales en donde los radicales de heterociclo están fusionados con un anillo saturado, parcialmente insaturado, o un anillo carbocíclico o heterocíclico aromático. Ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, morfolin-4-ilo, piperidin-1-ilo, piperazinilo, piperazin-4-il-2-ona, piperazin-4-il-3-ona, pirrolidin-1-ilo, tiomorfolin-4-ilo, S-dioxotiomorfolin-4-ilo, azocan-1-ilo, azetidin-1-ilo, octahidropirido[1,2-a]pirazin-2-ilo, [1,4]diazepan-1-ilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, piperidino, morfolino, tiomorfolino, tioxanilo, piperazinilo, homopiperazinilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo,

tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditianilo, ditiolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilimidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, azabicyclo[2.2.2]hexanilo, 3H-indolil quinolizinilo y N-piridil ureas. Los residuos espiro también se encuentran incluidos dentro del alcance de esta definición. Ejemplos de un grupo heterocíclico en donde 2 átomos de anillo están sustituidos con residuos oxo (=O) son pirimidinonilo y 1,1-dioxo-tiomorfolinilo. Los grupos heterociclo en la presente se sustituyen opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente.

El término “heteroarilo” se refiere a un radical aromático monovalente de anillos de 5, 6 o 7 miembros e incluye sistemas de anillo fusionado (de los cuales al menos uno es aromático) de 5 a 20 átomos, conteniendo uno o más heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre. Ejemplos de grupos heteroarilo son piridinilo (incluyendo, por ejemplo, 2-hidroxipiridinilo), imidazolilo, imidazopiridinilo, pirimidinilo (incluyendo, por ejemplo, 4-hidroxipirimidinilo), pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinolinilo, indazolilo, indolizinilo, ftalazinilo, piridazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, y fuopiridinilo. Los grupos heteroarilo se sustituyen opcionalmente independientemente con uno o más de los sustituyentes descritos en la presente.

Los grupos heterociclo o heteroarilo pueden estar enlazados a carbono (enlazados a carbono), o a nitrógeno (enlazados a nitrógeno) cuando esto es posible. A modo de ejemplo y no como limitación, los heterociclos o heteroarilos enlazados a carbono están enlazados en la posición 2, 3, 4, 5 o 6 de una piridina, en la posición 3, 4, 5 o 6 de una piridazina, en la posición 2, 4, 5 o 6 de una pirimidina, en la posición 2, 3, 5 o 6 de una pirazina, en la posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, en la posición 2, 4 o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, en la posición 3, 4 o 5 de un

isoxazol, pirazol, o isotiazol, en la posición 2 o 3 de una aziridina, en la posición 2, 3 o 4 de una azetidina, en la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una quinolina o en la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una isoquinolina.

A modo de ejemplo y no como limitación, los heterociclos o heteroarilos enlazados a nitrógeno se enlazan en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, en la posición 2 de un isoindol, o isoindolina, en la posición 4 de una morfolina, y en la posición 9 de un carbazol, o β -carbolina.

Los términos “tratar” y “tratamiento” se refieren al tratamiento terapéutico, en donde el objetivo es retardar (aminorar) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el desarrollo o la expansión de artritis o cáncer. Para los propósitos de esta invención, los resultados clínicos benéficos o deseados incluyen, pero no se limitan a, el alivio de los síntomas, la disminución de la extensión de la enfermedad, el estado de enfermedad estabilizado (i.e., sin empeoramiento), el retraso o retardo de la progresión de la enfermedad, la aminoración o paliación del estado de enfermedad, y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. “Tratamiento” también puede significar la prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos que necesitan el tratamiento incluyen los que ya tienen la condición o trastorno.

La frase “cantidad terapéuticamente efectiva” significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata la enfermedad, condición o trastorno particular, (ii) atenúa, aminora, o elimina uno o más de los síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa el inicio de uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular descrito en la presente. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente efectiva del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (i.e., retrasar en alguna medida y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (i.e., retrasar en alguna medida y preferentemente detener) la metástasis del tumor; inhibir, en alguna medida, el crecimiento del tumor; y/o aliviar en alguna medida uno o más

de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco pueda prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, éste puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia del cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, evaluando el tiempo para la progresión de la enfermedad (TTP) y/o determinando la tasa de respuesta (RR).

“Trastorno inflamatorio” como se utiliza en la presente puede referirse a cualquier enfermedad, trastorno o síndrome en el cual una respuesta inflamatoria excesiva o desregulada conduce a síntomas inflamatorios excesivos, daño en el tejido huésped, o pérdida de la función del tejido. “Trastorno inflamatorio” también se refiere a un estado patológico mediado por el influjo de leucocitos y/o la quimiotaxis de neutrófilos.

“Inflamación” como se utiliza en la presente se refiere a una respuesta protectora localizada obtenida por el daño o la destrucción de los tejidos, que sirve para destruir, diluir o aislar (secuestrar) tanto el agente dañino como el tejido dañado. La inflamación se asocia notablemente con el influjo de leucocitos y/o la quimiotaxis de neutrófilos. La inflamación puede resultar de la infección con organismos patógenos y virus y de medios no infecciosos tales como un trauma o reperusión después de un infarto al miocardio o accidente cerebrovascular, de la respuesta inmune a antígenos externos y a respuestas autoinmunes. Por consiguiente, los trastornos inflamatorios dóciles al tratamiento con los compuestos de la Fórmula I abarcan trastornos asociados con las reacciones del sistema de defensa específico así como con las reacciones del sistema de defensa no específico.

“Sistema de defensa específico” se refiere al componente del sistema inmune que reacciona a la presencia de antígenos específicos. Ejemplos de inflamación resultante de la respuesta del sistema de defensa específico incluyen la clásica respuesta a antígenos externos, enfermedades autoinmunes, y respuesta a la hipersensibilidad de tipo retrasado mediada por las células T. Las enfermedades inflamatorias crónicas, el rechazo de tejidos y órganos sólidos trasplantados, e.g., trasplantes de riñón y médula ósea, y enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), son ejemplos adicionales de reacciones inflamatorias del sistema de defensa específico.

El término “sistema de defensa no específico” como se utiliza en la

presente se refiere a trastornos inflamatorios mediados por leucocitos que no tienen la capacidad de memoria inmunológica (e.g., granulocitos y macrófagos). Ejemplos de inflamación que resulta, al menos en parte, de una reacción del sistema de defensa no específico, incluyen la inflamación asociada con condiciones tales como síndrome de aflicción respiratoria en adultos (aguda) (ARDS) o síndromes de daño múltiple en órganos; daños por reperfusión; glomerulonefritis aguda; artritis reactiva; dermatosis con componentes inflamatorios agudos; meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central tales como accidente cerebrovascular; lesión térmica; enfermedad inflamatoria intestinal; síndromes asociados con la transfusión de granulocitos; y toxicidad inducida por citosina.

“Enfermedad autoinmune” como se utiliza en la presente se refiere a cualquier grupo de trastornos en los cuales el daño del tejido se asocia con las respuestas humorales o mediadas por células a los constituyentes propios del cuerpo.

“Enfermedad alérgica” como se utiliza en la presente se refiere a cualquier síntoma, daño al tejido o pérdida de la función del tejido que resulta de alergias. “Enfermedad artrítica” como se utiliza en la presente se refiere a cualquier enfermedad caracterizada por lesiones inflamatorias de las articulaciones atribuibles a una variedad de etologías. “Dermatitis” como se utiliza en la presente se refiere a cualquiera de una gran familia de enfermedades de la piel caracterizadas por la inflamación de la piel atribuible a una variedad de etiologías. “Rechazo al trasplante” como se utiliza en la presente se refiere a cualquier reacción inmune dirigida contra el tejido injertado, tal como órgano o células (e.g., médula ósea), caracterizada por la pérdida de función de los tejidos injertados y circundantes, dolor, hinchazón, leucocitosis y trombocitopenia. Los métodos terapéuticos de la presente invención incluyen métodos para el tratamiento de trastornos asociados con la activación de las células inflamatorias.

“Activación de las células inflamatorias” se refiere a la inducción por medio de un estímulo (incluyendo, pero sin limitarse a, citosinas, antígenos o auto-anticuerpos) de una respuesta celular proliferativa, la producción de mediadores solubles (incluyendo, pero sin limitarse a, citosinas, radicales de oxígeno, enzimas, prostanoïdes o aminas vasoactivas), o expresión de superficie celular de

miembros nuevos o incrementados de los mediadores (incluyendo, pero sin limitarse a, antígenos de histocompatibilidad mayores o moléculas de adhesión celular) en células inflamatorias (incluyendo, pero sin limitarse a, monocitos, macrófagos, linfocitos T, linfocitos B, granulocitos (i.e., leucocitos polimorfonucleares tales como neutrófilos, basófilos y eosinófilos), mastocitos, células dendríticas, células Langerhans, y células endoteliales). Se apreciará por las personas expertas en la técnica que la activación de uno o una combinación de estos fenotipos en estas células puede contribuir a la iniciación, perpetuación o exacerbación de un trastorno inflamatorio.

El término “NSAID” es un acrónimo para “fármaco anti-inflamatorio no esteroideo” y es un agente terapéutico con efectos analgésicos, antipiréticos (que disminuyen una elevada temperatura corporal y alivian el dolor son dañar la consciencia) y, en dosis mayores, anti-inflamatorios (que reducen la inflamación). El término “no esteroideo” se utiliza para distinguir estos fármacos de los esteroides, que (entre un amplio rango de otros efectos) tienen una acción depresora de eicosanoide, anti-inflamatoria similar. Como analgésicos, los NSAID son inusuales en que son no narcóticos. Los NSAID incluyen aspirina, ibuprofeno, y naproxeno. Los NSAID se indican comúnmente para el tratamiento de condiciones agudas o crónicas en donde el dolor y la inflamación se encuentran presentes. Los NSAID se indican generalmente para el alivio sintomático de las siguientes condiciones: artritis reumatoide, osteoartritis, artropatías inflamatorias (e.g., espondilitis anquilosante, artritis psoriática, síndrome de Reiter, gota aguda, dismenorrea, dolor óseo metastático, dolor de cabeza y migraña, dolor postoperatorio, dolor de suave a moderado debido a inflamación y daño a tejidos, pirexia, cólico íleo y renal. La mayoría de los NSAID actúan como inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa, inhibiendo las isoenzimas tanto ciclooxigenasa-1 (COX-1) como ciclooxigenasa-2 (COX-2). La ciclooxigenasa cataliza la formación de prostaglandinas y tromboxano a partir de ácido araquidónico (derivado en sí de la bicapa celular de fosfolípidos por la fosfolipasa A₂). Las prostaglandinas actúan (entre otras cosas) como moléculas mensajeras en el proceso de inflamación. Los inhibidores COX-2 incluyen, celecoxib, etoricoxib, lamiracoxib, parecoxib, rofecoxib, y valdecoxib.

El término “cáncer” se refiere a o describe la condición fisiológica en

mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular no regulado. Un “tumor” comprende una o más células cancerosas. Ejemplos del cáncer incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o malignidades linfoides. Ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen

5 cáncer de célula escamosa (e.g., cáncer de célula escamosa epitelial), cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de pulmón de célula no pequeña (“NSCLC”), adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o estomacal incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma,

10 cáncer cervical, cáncer ovárico, cáncer hepático, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de glándula salival, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, así como cáncer de cabeza y cuello.

15 “Malignidades hematológicas” (escritura británica malignidades “haematological”) son los tipos de cáncer que afectan la sangre, la médula ósea, y los nodos linfáticos. Debido a que los tres se encuentra íntimamente conectados a través del sistema inmune, una enfermedad que afecta a uno de los tres afectará frecuentemente también a los otros; aunque el linfoma es una enfermedad de los

20 nodos linfáticos, frecuentemente se extiende hacia la médula ósea, afectando la sangre. Las malignidades hematológicas son neoplasmas malignos (“cáncer”) y generalmente se tratan por especialistas en hematología y/u oncología. En algunos centros “hematología/oncología” es una sola sub-especialidad de medicina interna mientras en otros se consideran divisiones separadas (también

25 existen oncólogos quirúrgicos y de radiación). No todos los trastornos hematológicos son malignos (“cancerosos”); estas otras condiciones de la sangre también pueden manejarse por un hematólogo. Las malignidades hematológicas pueden derivarse de cualquiera de los dos linajes de células sanguíneas: las líneas celulares mieloide y linfoide. La línea celular mieloide produce normalmente

30 granulocitos, eritrocitos, trombocitos, macrófagos y mastocitos; la línea celular linfoide produce células B, T, NK y de plasma. Los linfomas, leucemias linfocíticas, y el mieloma son de la línea linfoide, mientras la leucemia mielógena aguda y crónica, los síndromes mielodisplásicos y las enfermedades

mieloproliferativas son de origen mieloide. Las leucemias incluyen leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia monocítica aguda (AMOL) y linfoma linfocítico pequeño (SLL). Los linfomas incluyen linfomas de Hodgkin (los cuatro subtipos) y los linfomas no de Hodgkin (todos los subtipos).

Un “agente quimioterapéutico” es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer, independientemente del mecanismo de acción. Las clases de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a: agentes de alquilación, antimetabolitos, alcaloides de mazorca de planta venenosa, antibióticos citotóxicos/anti-tumor, inhibidores de topoisomerasa, anticuerpos, fotosensibilizadores, e inhibidores de cinasa. Los agentes quimioterapéuticos incluyen compuestos utilizados en “terapia dirigida” y en quimioterapia convencional. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen: erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), docetaxel (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (fluorouracilo, 5-fluorouracilo, CAS No. 51-21-8), gemcitabina (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS No. 391210-10-9, Pfizer), cisplatina (cis-diamina, dicloroplatino(II), CAS No. 15663-27-1), carboplatina (CAS No. 41575-94-4), paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomida (4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo [4.3.0] nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoxifen ((Z)-2-[4-(1,2-difenilbut-1-enil)fenoxi]-N,N-dimetiletanamina, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), y doxorubicina (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD, y rapamicina.

Más ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen: oxaliplatina (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sunitinib (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), imatinib mesilato (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (inhibidor Mek, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (inhibidor Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (inhibidor BTK, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (inhibidor BTK, Novartis), XL-147 (inhibidor BTK, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorin (ácido folínico), rapamicina (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), everolimus (AFINITOR®, Novartis), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering

Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (libre de cremofor), formulaciones de nanopartículas fabricadas con albúmina de paclitaxel (American
 5 Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), clorambucil, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), canfosfamida (TELCYTA®, Telik), abiraterona (ZYTIGA®, Johnson & Johnson), tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®, NEOSAR®); alquil sulfonatos tales como busulfan, improsulfan y
 10 piposulfan; aziridinas tales como benzodopa, carbocuone, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecan); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus
 15 análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictiína; espongistatina; gases de nitrógeno tales como clorambucil, clornafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida,
 20 mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalan, novembicina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, gas de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediína (e.g., caliqueamicina, caliqueamicina gamma1I, caliqueamicina omega1I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl.
 25 (1994) 33:183-186); dinemicina, dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como el cromóforo de neocarzinostatina y los cromóforos de antibiótico de la cromoproteína enediína asociados), aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina,
 30 daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y deoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, nemorubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas,

peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina
 5 tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tiocuanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, dromoestanolona propionato, epitioestanol, mepitiostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano;
 10 relleno de ácido fólico tal como el ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamide glicosido; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucil; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucida; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinan; lonidainina; maytansinoides tales como maytansina y ansamitocinas; mitoguazona;
 15 mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuone; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente la toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinosida ("Ara-C");
 20 ciclofosfamida; tiotepa; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatina y carboplatina; vinblastina; etoposida (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona;
 25 teniposida; edatrexato; daunomicina; aminopterina; capecitabina (XELODA®, Roche); ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; y sales, ácidos y derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

También se incluyen en la definición de "agente quimioterapéutico" (i)
 30 agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores tales como anti-estrógenos y moduladores del receptor de estrógeno selectivos (SERMs), incluyendo, por ejemplo, tamoxifen (incluyendo NOVALDEX®; citrato de tamoxifen), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifen,

trioxifeno, koexifeno, LY117018, onapristona y FARESTON® (citrato de toremifina); (ii) inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógeno en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® (acetato de megestrol),
 5 AROMASIN® (exemestano; Pfizer), formestaina, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol, Novartis), y ARIMIDEX® (anastrozol, AstraZeneca); (iii) anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); (iv) inhibidores de proteína cinasa tales como los inhibidores MEK (WO
 10 2007/044515); (v) inhibidores de lípido cinasa; (vi) oligonucleótidos de antisentido, particularmente los que inhiben la expresión de los genes en las trayectorias de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras, tales como oblimersen (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozimas tales como los inhibidores de la expresión de VEGF (e.g.,
 15 ANGIOZYME®) e inhibidores de la expresión de HER2; (viii) vacunas tales como las vacunas para terapia de gen, por ejemplo, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® y VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; inhibidores de topoisomerasa 1 tales como LURTOTECAN®, ABARELIX® rmRH; (ix) agentes anti-angiogénicos tales como bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); y sales, ácidos y derivados
 20 farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

También se incluyen en la definición de “agente quimioterapéutico” anticuerpos terapéuticos tales como alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec.),
 25 pertuzumab (OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Carixia) y el conjugado de fármaco de anticuerpo, gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®, Wyeth).

Los anticuerpos monoclonales humanizados con potencial terapéutico como agentes quimioterapéuticos en combinación con los inhibidores
 30 BTK de la invención incluyen: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatumumab mertansina, cantuzumab mertansina, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab,

gemtuzumab ozogamicina, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resivizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetano, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleucina, tucusituzumab, umavizumab, urtoxazumab, y visilizumab.

Un “metabolito” es un producto producido a través del metabolismo en el cuerpo de un compuesto especificado o su sal. Los metabolitos de un compuesto pueden identificarse utilizando técnicas de rutina conocidas en la técnica y se determinan sus actividades utilizando pruebas tales como las descritas en la presente. Tales productos pueden resultar por ejemplo de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, desamidación, esterificación, desesterificación, división enzimática, y lo similar, del compuesto administrado. Por consiguiente, la invención incluye metabolitos de los compuestos de la invención, incluyendo los compuestos producidos por medio de un proceso que comprende poner en contacto un compuesto de la Fórmula I de esta invención con un mamífero durante un período de tiempo suficiente para producir un producto metabólico del mismo.

El término “inserto de paquete” se utiliza para referirse a las instrucciones normalmente incluidas en los paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información acerca de las indicaciones, el uso, la dosis, la administración, las contraindicaciones y/o advertencias referentes al uso de tales productos terapéuticos.

El término “quiral” se refiere a moléculas que tienen la propiedad de capacidad de no-sobreimposición del socio de imagen de espejo, mientras el término “aquiral” se refiere a moléculas que pueden sobre-imponerse sobre sus socios de imagen de espejo.

El término “estereoisómeros” se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero que difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

“Diastereómero” se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes de espejo una de la otra. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, e.g., puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales, y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse bajo procedimientos analíticos de alta resolución tales como electroforesis y cromatografía.

“Enantiómeros” se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes de espejo uno del otro que no pueden sobre-imponerse.

Las definiciones estereoquímicas y las convenciones utilizadas en la presente siguen generalmente a, S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Diccionario de términos químicos) (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; y Eliel, E. y Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds” (Estereoquímica de compuestos orgánicos) John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Los compuestos de la invención pueden contener centros asimétricos o quirales, y por consiguiente, existen en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la invención, incluyendo pero sin limitarse a, diastereómeros, enantiómeros y atropisómeros, así como sus mezclas tales como las mezclas racémicas, formen parte de la presente invención. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, i.e., tienen la capacidad para girar el plano de luz plano-polarizada. Al describir el compuesto ópticamente activo, se utilizan los prefijos D y L, o R y S para denotar la configuración absoluta de la molécula sobre su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz plano-polarizada por el compuesto, significando (-) que el compuesto es levo-rotatorio. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextro-rotatorio. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto que son imágenes de espejo uno del otro. Un estereoisómero específico también puede referirse como un enantiómero, y frecuentemente una mezcla de tales isómeros se denomina una mezcla enantiomérica. Una mezcla de enantiómeros de 50-50 se refiere como una mezcla racémica o un racemato, que puede presentarse en donde no ha habido estereo-selección o estereo-especificidad en una reacción o proceso químico. Los términos “mezcla racémica” y “racemato” se refieren a una mezcla equimolar de

dos especies enantioméricas, desprovistas de actividad óptica. Los enantiómeros pueden separarse de una mezcla racémica mediante un método de separación quiral, tal como la cromatografía de fluido supercrítica (SFC). La asignación de la configuración en los centros quirales en enantiómeros separados puede ser tentativa, y se representa en las estructuras de la Tabla 1 para propósitos ilustrativos, mientras la determinación estereoquímica espera, tal como los datos cristalográficos de rayos x.

El término “tautómero” o “forma tautomérica” se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que pueden inter-convertirse a través de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protón (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen inter-conversiones a través de la migración de un protón, tal como las isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen inter-conversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones que se enlazan.

El término “sales farmacéuticamente aceptables” denota sales que no son biológicamente o de otra manera indeseables. La frase “farmacéuticamente aceptable” indica que la sustancia o composición debe ser compatible químicamente y/o toxicológicamente, con los otros ingredientes que comprenden una formulación, y/o con el mamífero que se trata con la misma.

El término “sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable” denota las sales farmacéuticamente aceptables formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido fosfórico, y ácidos orgánicos seleccionados de alifático, cicloalifático, aromático, aralifático, heterocíclico, carboxílico y clases sulfónicas de ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico “mesilato”, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y ácido salicílico.

El término “sal de adición de base farmacéuticamente aceptable”

denota las sales farmacéuticamente aceptables formadas con una base orgánica o inorgánica. Ejemplos de bases inorgánicas aceptables incluyen sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, y aluminio. Las sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio de ion, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilenodiamina, glucosamina. Metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina y poliamina.

Un “solvato” se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de solvente y un compuesto de la invención. Ejemplos de solventes que forman solvatos incluyen, pero no se limitan a, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, etilacetato, ácido acético, y etanolamina.

El término “EC₅₀” es la concentración media efectiva máxima y denota la concentración en plasma de un compuesto particular requerida para obtener 50% del máximo de un efecto particular in vivo.

El término “K_i” es la constante de inhibición y denota la afinidad de enlace absoluta de un inhibidor particular a un receptor. Esta se mide utilizando análisis de enlace de competición y es igual a la concentración en donde el inhibidor particular ocuparía el 50% de los receptores si no se encontrara presente ningún ligando de competencia (e.g., radioligando). Los valores K_i pueden convertirse logarítmicamente en valores pK_i (-log K_i), en los cuales los valores más altos indican una potencia exponencialmente mayor.

El término “IC₅₀” es la concentración media inhibitoria máxima y denota la concentración de un compuesto particular requerida para obtener 50% de inhibición del proceso biológico in vitro. Los valores IC₅₀ pueden convertirse en valores pIC₅₀ (-log IC₅₀) en los cuales los valores más altos indican una potencia exponencialmente mayor. El valor IC₅₀ no es un valor absoluto sino que depende de las condiciones experimentales, e.g., las concentraciones empleadas, y puede convertirse en una constante de inhibición absoluta (K_i) utilizando la ecuación Cheng-Prusoff (Biochem Pharmacol (1973) 22:3099). Pueden calcularse otros

parámetros de inhibición porcentual, tales como IC₇₀, IC₉₀, etc.

Los términos “compuesto de esta invención” y “compuestos de la presente invención” y “compuestos de la Fórmula I” incluyen los compuestos de las Fórmulas I y estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros, solvatos, metabolitos y sales y profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Cualquier fórmula o estructura proporcionada en la presente, incluyendo los compuestos de la Fórmula I, también está destinada a representar hidratos, solvatos, y polimorfos de tales compuestos, y sus mezclas.

Cualquier fórmula o estructura proporcionada en la presente, incluyendo los compuestos de la Fórmula I, también está destinada a representar formas no etiquetadas así como formas isotópicamente etiquetadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente etiquetados tienen estructuras representadas por las fórmulas proporcionadas en la presente excepto que uno o más átomos se remplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado. Ejemplos de los isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como, pero sin limitarse a 2H (deuterio, D), 3H (tritio), 11C, 13C, 14C, 15N, 18F, 31P, 32P, 35S, 36Cl, y 125I. Varios compuestos isotópicamente etiquetados de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los cuales se incorporan isótopos radiactivos tales como 3H, 13C y 14C. Tales compuestos isotópicamente etiquetados pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios de reacción cinética, técnicas de detección o visualización, tales como la tomografía de emisión de positrón (PET) o la tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) incluyendo ensayos de distribución en tejido de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. Los compuestos etiquetados con deuterio o terapéuticos de sustitución de la invención pueden tener propiedades mejoradas de DMPK (metabolismo y farmacocinética del fármaco), relacionadas con la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME). La sustitución con isótopos más pesados tales como el deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, vida media incrementada in vivo o requerimientos de dosis reducidos. Un compuesto etiquetado con 18F puede ser útil para estudios PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente etiquetados de

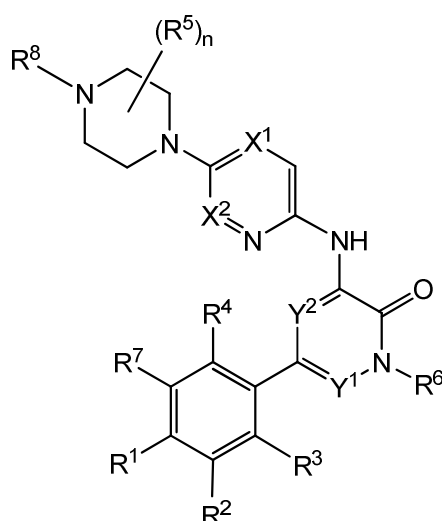
esta invención y sus profármacos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos más adelante sustituyendo un reactivo isotópicamente etiquetado fácilmente disponible por un reactivo no isotópicamente etiquetado.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (i.e., 2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, vida media incrementada in vivo o reducidos requerimientos de dosis o una mejoría en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente en el compuesto de la fórmula (I). La concentración de tal isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse por un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta invención cualquier átomo no específicamente designado como un isótopo particular pretende representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se defina de otra manera, cuando una posición se designa específicamente como “H” o “hidrógeno”, se entiende que la posición tiene hidrógeno en la abundancia natural de su composición isotópica. Por consiguiente, en los compuestos de esta invención cualquier átomo específicamente designado como un deuterio (D) pretende representar deuterio.

COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS

La presente invención proporciona los compuestos de piperazina alquilados de la Fórmula I, y sus formulaciones farmacéuticas, que son potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades, condiciones y/o trastornos modulador por Btk cinasa.

Las modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I incluyen



o sus estereoisómeros, tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2OH$, y alquilo C_1-C_3 ;

R^4 se selecciona de H, F, Cl, CN, $-CH_2OH$, $-CH(CH_3)OH$, $-C(CH_3)_2OH$, $-CH(CF_3)OH$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CH_2CHF_2$, $-CF_3$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHCH_3$, $-C(O)N(CH_3)_2$, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-NHC(O)CH_3$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2OH$, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, 1-hidroxiciclopropilo, imidazolilo, pirazolilo, 3-hidroxi-oxetan-3-ilo, oxetan-3-ilo, y azetidin-1-ilo;

R^5 se selecciona de $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2OH$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-CN$, y $-CH_2CH_2OH$;

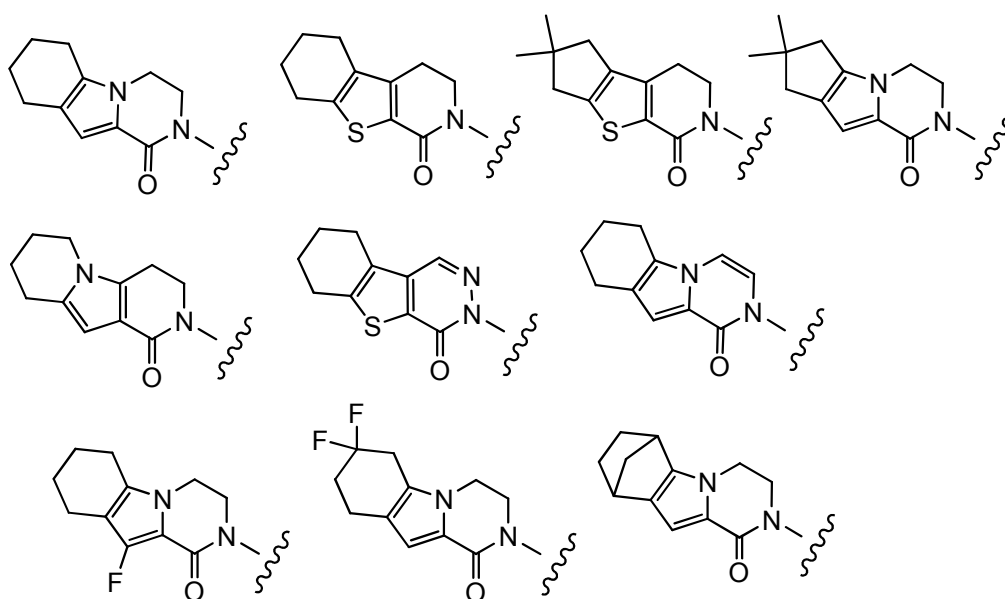
o dos grupos R^5 forman un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3-, 4-, 5-, o 6 miembros;

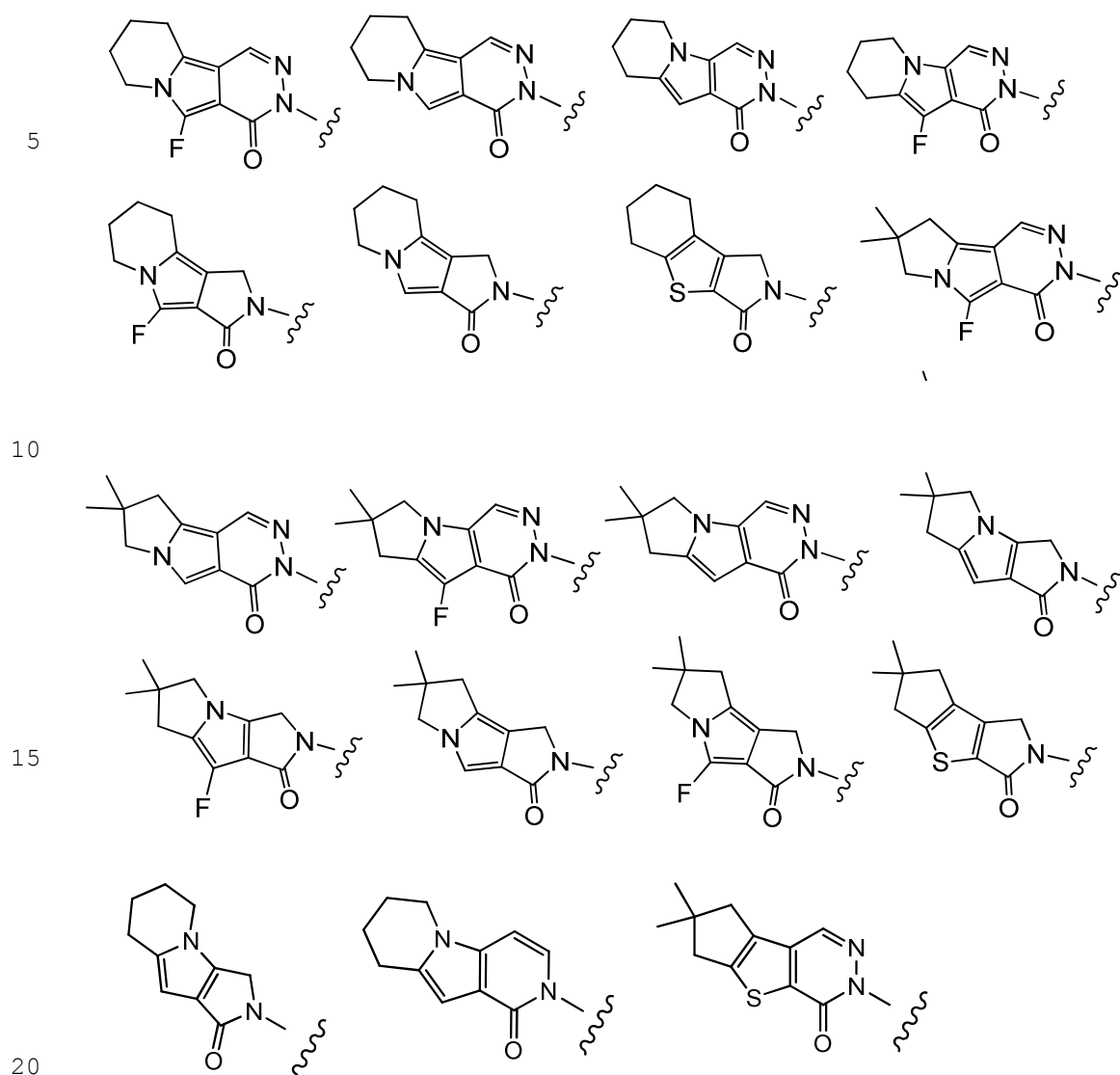
o un grupo R^5 y un grupo R^8 forman un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3-, 4-, 5-, o 6 miembros;

n es 1, 2, 3, o 4

R^6 se selecciona de H, F, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2OH$, $-NH_2$, y $-OH$;

R^7 se selecciona de las estructuras:





en donde la línea ondulada indica el sitio de unión;

R^8 se selecciona de $-CH_3$, $-S(O)_2CH_3$, ciclopropilo, azetidin-3-ilo, oxetan-3-ilo, y morfolin-4-ilo;

X^1 es CR^9 o N, en donde R^9 se selecciona de H, F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2OH$, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, y $-OCH_2CH_2OH$;

X^2 es CR^{10} o N, en donde R^{10} se selecciona de H, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, y $-CH_2CH_2OH$; y

Y^1 y Y^2 se seleccionan independientemente de CH y N, en donde Y^1 y Y^2 no son cada uno N.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I en donde X es CR^9 , y R^9 es H.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la

Fórmula I en donde X es N.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I en donde R^4 es $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la
5 Fórmula I en donde R^2 es F.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I en donde R^1 y R^3 son H.

Se incluyen modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I en donde R^6 es CH_3 .

10 Los compuestos de la Fórmula I de la invención pueden contener centros asimétricos o quirales, y en consecuencia existen en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la invención, incluyendo, pero sin limitarse a, diastereómeros, enantiómeros y atropisómeros, así como sus mezclas tales como las mezclas
15 racémicas, forman parte de la presente invención.

Además, la presente invención abarca todos los diastereómeros, incluyendo isómeros cis-trans (geométricos) y conformacionales. Por ejemplo, si un compuesto de la Fórmula I incorpora un enlace doble o un anillo fusionado, las formas cis y trans, así como sus mezclas, se encuentran abarcadas dentro del
20 alcance de la invención.

En las estructuras mostradas en la presente, en donde no se especifica la estereoquímica de cualquier átomo quiral particular, entonces todos los estereoisómeros se contemplan e incluyen como los compuestos de la invención. Cuando la estereoquímica se especifica mediante una cuña sólida o
25 línea interrumpida que representa una configuración particular, entonces ese estereoisómero se especifica y se define así.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y lo similar, y se pretende que la invención abarque las
30 formas tanto solvatadas como no solvatadas.

Los compuestos de la presente invención también pueden existir en diferentes formas tautoméricas, y todas tales formas se encuentran abarcadas dentro del alcance de la invención. El término “tautómero” o “forma tautomérica”

se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que pueden interconvertirse mediante una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protón (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante la migración de un protón, tales como isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones de enlace.

EVALUACIÓN BIOLÓGICA

Las eficacias relativas de los compuestos de la Fórmula I como inhibidores de la actividad enzimática (u otra actividad biológica) pueden establecerse determinando las concentraciones a las cuales cada compuesto inhibe la actividad a un grado predefinido y después comparando los resultados. Típicamente, la determinación preferida es la concentración que inhibe el 50% de la actividad en un análisis bioquímico, i.e., el 50% de la concentración inhibitoria o "IC₅₀". La determinación de los valores IC₅₀ puede lograrse utilizando técnicas convencionales conocidas en la técnica. En general, la IC₅₀ puede determinarse midiendo la actividad de una enzima dada en presencia de un rango de concentraciones del inhibidor bajo estudio. Los valores experimentalmente obtenidos de la actividad enzimática se trazan entonces contra las concentraciones del inhibidor utilizadas. La concentración del inhibidor que muestra 50% de actividad enzimática (en comparación con la actividad en ausencia de cualquier inhibidor) se toma como el valor IC₅₀. De manera análoga, pueden definirse otras concentraciones inhibitorias a través de las determinaciones apropiadas de la actividad. Por ejemplo, en algunas configuraciones puede ser deseable establecer una concentración inhibitoria de 90%, i.e., IC₉₀, etc.

Los compuestos de la Fórmula I se probaron por medio de un análisis bioquímico estándar de Btk cinasa (Ejemplo 901).

Puede utilizarse un procedimiento general para un análisis estándar celular de Btk cinasa que para probar los compuestos de la Fórmula I es un Análisis Ramos de céluBtk (Ejemplo 902).

Puede utilizarse un análisis estándar de proliferación celular de células B para probar los compuestos de la Fórmula I con células B purificadas a partir del bazo de ratones Balb/c (Ejemplo 903).

Puede utilizarse un análisis estándar de proliferación de células T para probar Los compuestos de la Fórmula I con células T purificadas a partir del bazo de ratones Balb/c (Ejemplo 904).

5 Puede conducirse un análisis de inhibición de CD86 en los compuestos de la Fórmula I para la inhibición de la actividad de células B utilizando esplenocitos de ratón totales purificados a partir de bazos de ratones Balb/c de 8 a 16 semanas de edad (Ejemplo 905).

10 Puede conducirse un análisis de supervivencia de células B-ALL en los compuestos de la Fórmula I para medir el número de células B-ALL viables en cultivo (Ejemplo 906).

Puede conducirse un análisis de sangre completa de CD69 en los compuestos de la Fórmula I para determinar la capacidad de los compuestos para inhibir la producción de CD69 por los linfocitos B en sangre completa humana activada por la reticulación de la IgM de superficie con IgM de cabra anti-humano F(ab')₂ (Ejemplo 907). CD69 es una lectina II tipo C implicada en la migración de linfocitos y la secreción de citosina. La expresión de CD69 representa uno de los más tempranos indicadores disponibles de la activación de leucocitos y su rápida inducción se presenta a través de la activación transcripcional (Vazquez et al (2009) Jour. of Immunology, publicada el 19 de octubre de 2009, doi: 10.4049/jimmunol.0900839). La inhibición dependiente de la concentración de la estimulación del receptor de antígeno inhibidores de Btk selectivos induce la expresión de superficie celular del marcador de CD69 de activación de linfocitos (Honigberg et al (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. 107(29):13075-13080). Por tanto, la inhibición de CD69 mediante inhibidores de Btk selectivos puede correlacionarse con la eficacia terapéutica de ciertos trastornos de célula. Se despliegan los valores IC₇₀ de CD69 Hu Blood FACS para los compuestos ejemplares de la Fórmula I en las Tablas 1 y 2.

30 La actividad citotóxica o citostática de los compuestos ejemplares de la Fórmula I puede medirse: estableciendo una línea celular de tumor de mamífero proliferante en un medio de cultivo celular, agregando un compuesto de la Fórmula I, cultivando las células durante un período de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 5 días; y midiendo la viabilidad celular (Ejemplo 908). Se utilizan análisis in vitro a base de células para medir la viabilidad, i.e. proliferación

(IC50), citotoxicidad (EC50), e inducción de apoptosis (activación de caspasa), y pueden ser útiles para predecir la eficacia clínica contra malignidades hematológicas y tumores sólidos.

La potencia in vitro de las combinaciones de los compuestos de la Fórmula I con agentes quimioterapéuticos puede medirse por medio del análisis de proliferación celular del Ejemplo 908; El análisis luminiscente de viabilidad celular CellTiter-Glo®, comercialmente disponible de Promega Corp., Madison, WI. Este método de análisis homogéneo se basa en la expresión recombinante de Coleoptera luciferasa (US 5583024; US 5674713; US 5700670) y determina el número de células viables en cultivo en base a la cuantificación del ATP presente, un indicador de células metabólicamente activas (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). El análisis CellTiter-Glo® se condujo en un formato de 96 o 384 pozos, haciéndolo dócil a la exploración automatizada de alto desempeño (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs (Fármacos anticáncer) 6:398-404). El procedimiento de análisis homogéneo implica agregar el reactivo único (reactivo CellTiter-Glo®) directamente a las células cultivadas en un medio suplementado con suero. No se requiere lavado celular, retiro del medio ni múltiples etapas de pipeteado. El sistema detecta tan pocas como 15 células/pozo en un formato de 384 pozos en 10 minutos después de agregar el reactivo y mezclar.

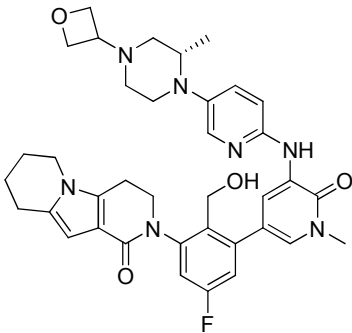
El formato homogéneo de "adición-mezclado-medición" da como resultado la lisis celular y la generación de una señal luminiscente proporcional a la cantidad del ATP presente. La cantidad de ATP es directamente proporcional al número de células presente en el cultivo. El análisis CellTiter-Glo® genera una señal luminiscente "tipo brillo", producida por la reacción de luciferasa, que tiene una vida media generalmente mayor que cinco horas, dependiendo del tipo de célula y del medio utilizado. Las células viables se reflejan en unidades de luminiscencia relativa (RLU). El sustrato, Beetle luciferina, se descarboxila oxidativamente mediante la luciferasa de luciérnaga recombinante con la conversión concomitante de ATP a AMP y la generación de fotones. La vida media extendida elimina la necesidad de utilizar inyectores de reactivo y proporciona flexibilidad para el procesamiento en modo continuo o por lotes de múltiples placas. Este análisis de proliferación celular puede utilizarse con varios

formatos multi-pozos, e.g. un formato de 96 o 384 pozos. Los datos pueden registrarse mediante un luminómetro o un dispositivo de visualización de cámara CCD. El resultado de luminiscencia se presenta como unidades luminosas relativas (RLU), medidas al paso del tiempo.

La eficacia anti-proliferativa de los compuestos ejemplares de la Fórmula I y combinaciones con agentes quimioterapéuticos se mide por medio del análisis CellTiter-Glo® (Ejemplo 908) contra ciertas líneas celulares de tumor hematológico. Se establecen los valores EC₅₀ para los compuestos y combinaciones probadas.

Los compuestos ejemplares de la Fórmula I en las Tablas 1 y 2 se prepararon, se caracterizaron y se probaron por la inhibición de Btk de acuerdo con los métodos de esta invención, y tienen las siguientes estructuras y los nombres correspondientes (ChemDraw Ultra, Versión 9.0.1, y ChemBioDraw, Versión 11.0, CambridgeSoft Corp., Cambridge MA). Cuando más de un nombre se asocia con un compuesto de la Fórmula I o un intermediario, La estructura química definirá el compuesto.

Tabla 1

No.	Estructura	Nombre IUPAC	Peso Mol	FACS IC70 de CD69 de Sangre Hu (µM)
101		(S)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona	669	0.0338

5

10

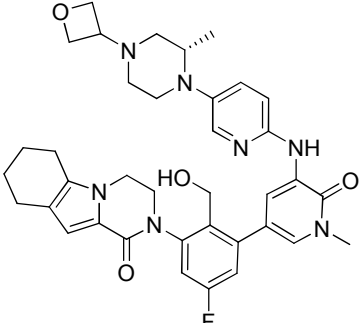
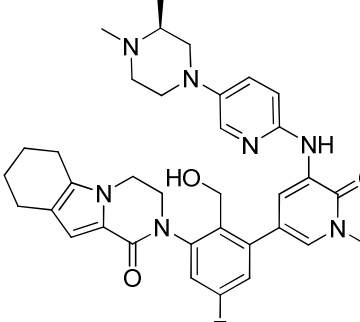
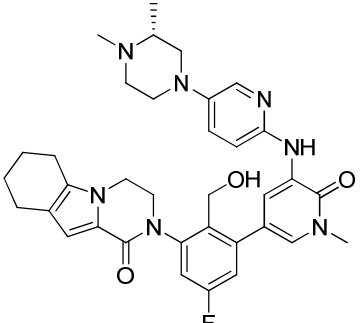
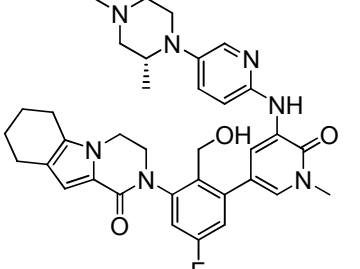
15

20

25

102		(S)-5-[5-fluoro-2hidroximetil)-3(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil]-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.02,7]trideca-1(9),2(7),3- trien-6-ona	684	0.031
103		(2S)-10-[5-fluoro-2hidroximetil)-3-[1-metil-5-({5-[2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridine-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil]-4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.02,6]dodeca-2(6),7-dien-9-ona	682	0.0145
104		2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	682	0.015
105		(S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	682	0.008

30

106		(S)-2-(5-fluoro-2hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	668	0.019
107		(S)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	626	0.044
108		(R)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil -6-oxo -1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil) fenil) - 3,4,6,7,8,9- hexahidropirazino [1,2-α]indol-1(2H)-ona	626	0.023
109		(R)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	626	0.029

5

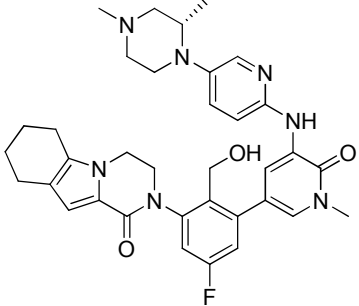
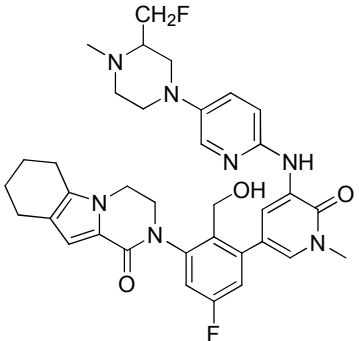
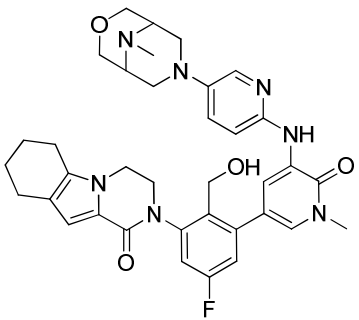
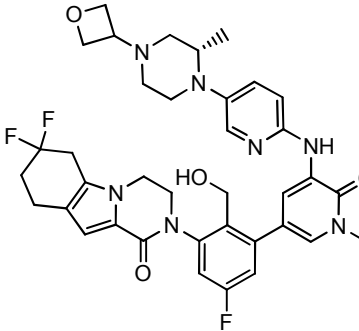
10

15

20

25

30

110		(S)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	626	0.006
111		2-(5-fluoro-3-(5-(5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	644	0.092
112		2-(5-fluoro-2hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	654	0.17
113		(S)-7,7-difluoro-2-(5-fluoro-2hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	703.75	

5

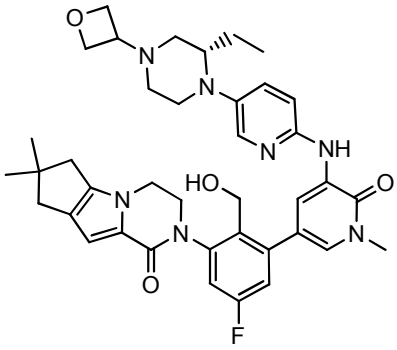
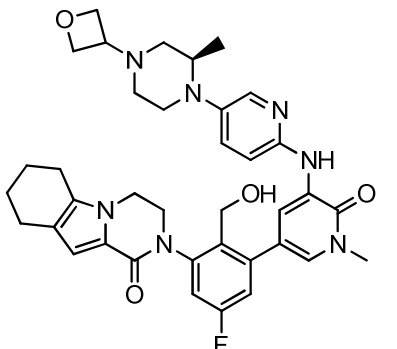
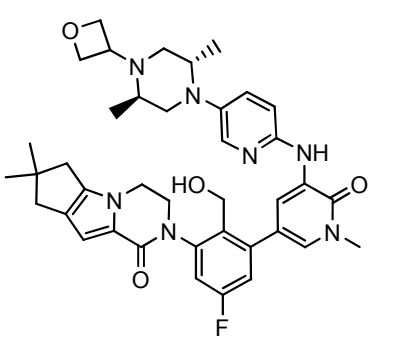
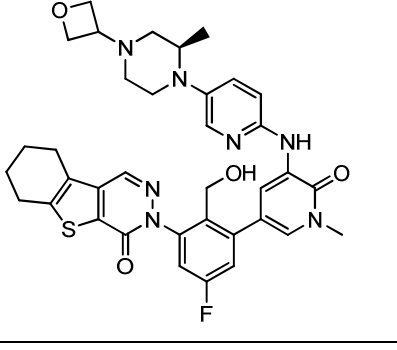
10

15

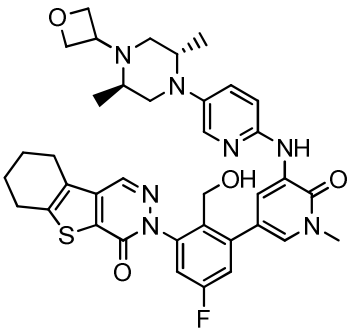
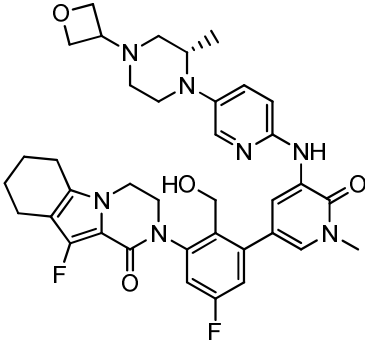
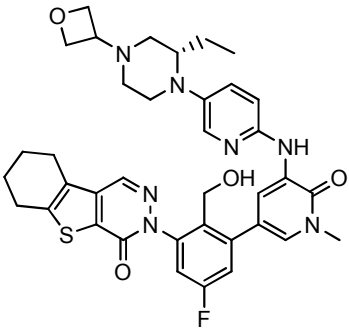
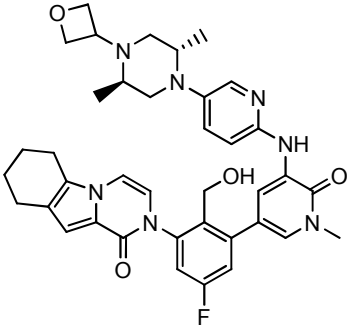
20

25

30

114		2-(3-{5-[5-((S)-2-Etil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ona	695.83	
115		(R)-2-(5-fluoro-2hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	667.77	
116		2-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-Dimetil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ona	695.83	
117		3-(5-Fluoro-2-hidroximetil-3-{1-metil-5-[5-((R)-2-metil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona	683.79	

5

118		3-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-Dimetil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il} -5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona	697.82	
119		(S)-10-fluoro-2-(5-fluoro-2hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	685.76	
120		3-(3-{5-[5-((S)-2-Etil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il} -5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona	697.82	
121		2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	679.78	

5

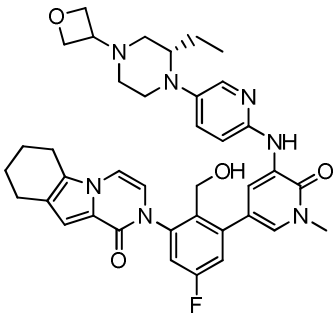
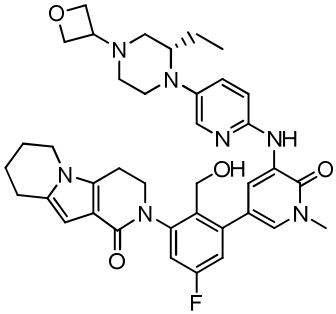
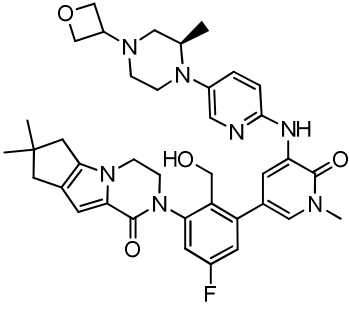
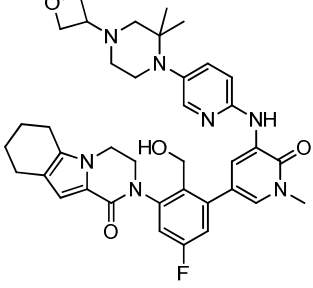
10

15

20

25

30

122		(S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	680.78	
123		(S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona	681.80	
124		2-(5-Fluoro-2-hidroxitimetil-3-{1-metil-5-[5-((R)-2-metil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ona	681.80	
125		2-(3-(5-(5-(2,2-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona	681.80	

5

10

15

20

25

No.	Estructura	Nombre IUPAC	FACS (IC70) de CD69 de sangre Hu
126		2-[3-[5-[[5-[(2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-1-metil-6-oxo-3-piridil]-5-fluoro-2hidroximetil]fenil]-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1-ona	0.0571
127		2-[5-fluoro-2hidroximetil]-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-6,7,8,9-tetrahidropiridazino[4,5-b]indolizin-1-ona	0.051
128		ácido 2-(7,7-dimetil-4-oxo-1,2,6,8-tetrahidrociclopenta[3,4]pirrolo[3,5-b]pirazin-3-il)-4-fluoro-6-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]benzóico	5

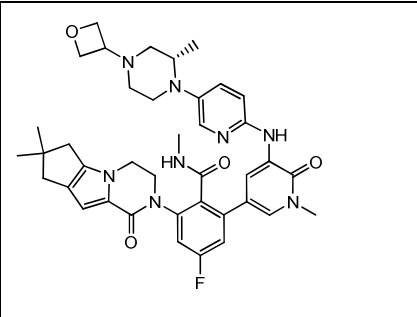
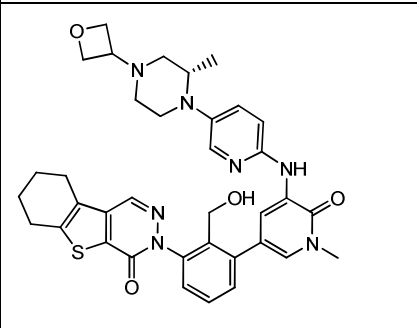
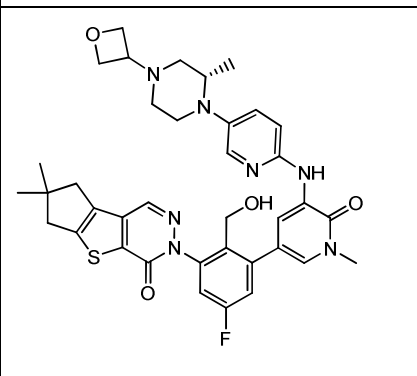
30

5

10

15

20

129		2-(7,7-dimetil-4-oxo-1,2,6,8-tetrahidrociclopenta[3,4]pirrolo[3,5-b]pirazin-3-il)-4-fluoro-N-metil-6-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]benzamida	0.472
130		3-[2hidroximetil]-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-6,7,8,9-tetrahidrobenzotiofeno[2,3-d]piridazin-4-ona	0.0354
131		3-[5-fluoro-2hidroximetil]-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-7,7-dimetil-6,8-dihidrociclopenta[3,4]tieno[1,3-d]piridazin-4-ona	0.0349

25

ADMINISTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA FÓRMULA I

30

Los compuestos de la invención pueden administrarse por cualquier vía apropiada para la condición que se trata. Las vías adecuadas incluyen oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intradérmica, intratecal y epidural), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Para tratamiento local inmunosupresor, los compuestos pueden administrarse por administración intra-lesión, incluyendo por perfusión o de otra manera por el

contacto del injerto con el inhibidor antes del trasplante. Se apreciará que la vía preferida puede variar por ejemplo con la condición del receptor. Cuando el compuesto se administra oralmente, éste puede formularse como una píldora, cápsula, tableta, etc., con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 5 Cuando el compuesto se administra parenteralmente, éste puede formularse con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable y en una forma inyectable de dosis unitaria, como se detalla más adelante.

Una dosis para tratar pacientes humanos puede variar de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg del compuesto de la
10 Fórmula I. Una dosis típica puede ser de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg del compuesto. Una dosis puede administrarse una vez al día (QID), dos veces al día (BID) o más frecuentemente, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas incluyendo, la absorción, distribución, metabolismo y excreción del compuesto particular. Adicionalmente,
15 los factores de toxicidad pueden influir en el régimen de dosis y administración. Cuando se administra oralmente, la píldora, cápsula o tableta puede ingerirse diariamente o menos frecuentemente durante un período de tiempo especificado. El régimen puede repetirse durante numerosos ciclos de terapia.

20 MÉTODOS DE TRATAMIENTO CON LOS COMPUESTOS DE LA FÓRMULA I

Los compuestos de la Fórmula I de la presente invención son útiles para tratar a un paciente humano o animal que sufre de una enfermedad o trastorno que surge de un crecimiento, función o comportamiento celular anormal asociado con Btk cinasa tal como un trastorno inmune, enfermedad
25 cardiovascular, infección viral, inflamación, un trastorno del metabolismo/endocrino o un trastorno neurológico, que pueden tratarse por medio de un método que comprende la administración al mismo de un compuesto de la presente invención como se definió anteriormente. Un paciente humano o animal que sufre de cáncer también puede tratarse mediante un método que comprende la administración al
30 mismo de un compuesto de la presente invención como se definió anteriormente. Por consiguiente la condición del paciente puede mejorar o aminorarse.

Los compuestos de la Fórmula I pueden ser útiles para el diagnóstico o tratamiento in vitro, in situ e in vivo de células de mamífero, organismos o

condiciones patológicas asociadas, tales como inflamación sistémica y local, enfermedades inmunes-inflamatorias tales como artritis reumatoide, supresión inmune, rechazo al trasplante de órganos, alergias, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, dermatitis, asma, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, 5 esclerosis múltiple, escleroderma/esclerosis sistémica, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), vasculitis de anticuerpos citoplásmicos anti-neutrófilos (ANCA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), psoriasis, y para efectos protectores de articulaciones en general.

Los métodos de la invención también incluyen el tratamiento de 10 enfermedades tales como enfermedades artríticas, tales como artritis reumatoide, artritis monoarticular, osteoartritis, artritis gotosa, espondilitis; enfermedad de Behcet, sepsis, choque séptico, choque endocrino, sepsis gram negativo, sepsis gram positivo, y síndrome de choque tóxico, síndrome de daño múltiple en órganos secundario a septicemia, trauma o hemorragia; trastornos oftálmicos tales 15 como conjuntivitis alérgica, conjuntivitis vernal, uveítis, y oftalmopatía asociada a tiroides; granuloma eosinófilo; trastornos pulmonares o respiratorios tales como asma, bronquitis crónica, rinitis alérgica, ARDS, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica (e.g., enfermedad pulmonar obstructiva crónica), silicosis, sarcoidosis pulmonar, pleuresía, alveolitis, vasculitis, enfisema, neumonía, bronquiesctasis, y 20 toxicidad pulmonar al oxígeno; daño por reperfusión del miocardio, cerebro o extremidades; fibrosis tal como fibrosis quística; formación queloide o formación de cicatriz en tejido; aterosclerosis; enfermedades autoinmunes, tales como lupus eritematoso sistémico (SLE), tiroiditis autoinmune, esclerosis múltiple, algunas formas de diabetes, y síndrome de Reynaud; y trastornos de rechazo al 25 trasplante tales como GVHD y rechazo a aloinjerto; glomerulonefritis crónica; enfermedades inflamatorias intestinales tales como la enfermedad inflamatoria intestinal crónica (CIBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, y enterocolitis necrotizante; dermatosis inflamatoria tal como la dermatitis por contacto, dermatitis atópica, psoriasis o urticaria; fiebre y mialgias debidas a infección; trastornos 30 inflamatorios del sistema nervioso central o periférico tales como meningitis, encefalitis y daño a la médula cerebral o espinal debido a trauma menor; síndrome de Sjögren; enfermedades que implican diapedesis de leucocitos; hepatitis alcohólica; neumonía bacteriana; enfermedades mediadas por el complejo

antígeno-anticuerpo, choque hipovolémico; diabetes mellitus tipo I; hipersensibilidad aguda y retardada; estados de enfermedad debidos a discrasia y metástasis de leucocitos; lesión térmica; síndromes asociados con la transfusión de granulocitos; y toxicidad inducida por citosina.

5 Los métodos de la invención también incluyen el tratamiento del cáncer seleccionado de cáncer de mama, ovario, cérvix, próstata, testículo, tracto genitourinario, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratocantoma, carcinoma epidermoide, carcinoma de célula grande, carcinoma pulmonar de célula no pequeña (NSCLC), carcinoma de célula pequeña, 10 adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma no diferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado, y pasajes biliares, carcinoma de riñón, pancreático, trastornos mieloides, linfoma, células vellosas, cavidad bucal, nasofaríngeo, faríngeo, de labio, lengua, boca, 15 intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y del sistema nervioso central, leucemia de Hodgkin, bronquios, tiroides, conducto biliar hepático e intra-hepático, gástrico, glioma/glioblastoma, endometrial, melanoma, de riñón y pelvis renal, vejiga urinaria, cuerpo uterino, cérvix uterino, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica, 20 leucemia linfoide crónica (CLL), leucemia mieloide, de cavidad oral y faringe, linfoma no de Hodgkin, y adenoma de colon vellosos.

Los métodos de la invención pueden tener utilidad en el tratamiento de sujetos que están o pueden estar sometidos a daño por reperfusión, i.e., lesión resultante de situaciones en las cuales un tejido u órgano experimenta un período 25 de isquemia seguido por reperfusión. El término “isquemia” se refiere a anemia en tejido localizada debida a la obstrucción del flujo de entrada de sangre arterial. La isquemia transitoria seguida por reperfusión da como resultado característicamente en la activación y transmigración de neutrófilos a través del endotelio de los vasos sanguíneos en el área afectada. La acumulación de 30 neutrófilos activados da como resultado a su vez en la generación de metabolitos reactivos al oxígeno, que daña los componentes del tejido u órgano implicado. Este fenómeno de “daño por reperfusión” se asocia comúnmente con condiciones tales como choque vascular (incluyendo isquemia global y focal), choque

hemorrágico, isquemia o infarto al miocardio, trasplante de órganos, y vasoespasmo cerebral. Para ilustrarlo, el daño por reperfusión se presenta al finalizar los procedimientos de derivación cardiaca o durante un paro cardiaco cuando el corazón, una vez privado de recepción de sangre, comienza a sufrir reperfusión. Se espera que la inhibición de la actividad de Btk pueda dar como resultado reducidas cantidades de daño por reperfusión en tales situaciones.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

A fin de utilizar un compuesto de esta invención para el tratamiento terapéutico de mamíferos incluyendo humanos, éste se formula normalmente de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar como una composición farmacéutica. De acuerdo con este aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de esta invención en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Una formulación típica se prepara mezclando un compuesto de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente. Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados son muy conocidos por los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles y/o engrosables en agua, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, solventes, agua y lo similar. El vehículo, diluyente o excipiente particular utilizado dependerá del medio y del propósito para el cual se aplica el compuesto de la presente invención. Los solventes se seleccionan generalmente en base a los solventes reconocidos por las personas expertas en la técnica como seguros (GRAS) para administrarse a un mamífero. En general, los solventes seguros son solventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros solventes no tóxicos que son solubles o mezclables en agua. Los solventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (e.g., PEG 400, PEG 300), etc., y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más amortiguadores, agentes estabilizantes, surfactantes, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservadores, antioxidantes, agentes de opacidad, deslizantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, endulzantes, agentes perfumadores, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación del fármaco elegante (i.e., un compuesto de la presente invención o su composición farmacéutica) o para

auxiliar en la fabricación del producto farmacéutico (i.e., medicamento).

Las formulaciones pueden prepararse utilizando procedimientos convencionales de disolución y mezclado. Por ejemplo, la sustancia de fármaco en volumen (i.e., el compuesto de la presente invención o una forma estabilizada del compuesto, (e.g., un complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de complejación conocido) se disuelve en un solvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes antes descritos. El compuesto de la presente invención se formula típicamente en formas de dosis farmacéuticas para proporcionar una dosis del fármaco fácilmente controlable y para permitir el cumplimiento del paciente con el régimen prescrito.

La composición (o formulación) farmacéutica para aplicación puede empaquetarse en una variedad de formas dependiendo del método utilizado para administrar el fármaco. Generalmente, un artículo para distribución incluye un contenedor que tiene depositada en el mismo la formulación farmacéutica de manera apropiada. Los contenedores adecuados son muy conocidos por los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como botellas (plásticas y de vidrio), sobres, ampulas, bolsas de plástico, cilindros de metal, y lo similar. El contenedor también puede incluir un ensamblaje no alterable para evitar el acceso indiscriminado al contenido del paquete. Adicionalmente, el contenedor tiene depositado en el mismo una etiqueta que describe el contenido del contenedor. La etiqueta también puede incluir las advertencias apropiadas.

Las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención pueden prepararse para diversas vías y tipos de administración. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I que tiene el grado de pureza deseado puede mezclarse opcionalmente con diluyentes, vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16ª edición, Osol, A. Ed.) en forma de una formulación liofilizada, un polvo triturado, o una solución acuosa. La formulación puede conducirse mezclando a temperatura ambiente al pH apropiado, y al grado de pureza deseado, con vehículos fisiológicamente aceptables, i.e., vehículos que son no tóxicos a los receptores en las dosis y concentraciones empleadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y de la concentración del compuesto, pero puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 8. La

formulación en un amortiguador de acetato a un pH 5 es una modalidad adecuada.

Comúnmente el compuesto puede almacenarse como una composición sólida, una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se formularán, se dosificarán y se administrarán de una manera, i.e., cantidades, concentraciones, esquemas, curso, vehículos y vía de administración, consistente con la buena práctica médica. Los factores a considerar en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de suministro del agente, el método de administración, el esquema de administración, y otros factores conocidos por los practicantes médicos. La “cantidad terapéuticamente efectiva” del compuesto que va a administrarse se regirá por tales consideraciones y es la cantidad mínima necesaria para aminorar o tratar el trastorno hiperproliferativo.

Como proposición general, la cantidad inicial farmacéuticamente efectiva del inhibidor administrada parenteralmente por dosis se encontrará en el rango de aproximadamente 0.01 a 100 mg/kg, es decir de aproximadamente 0.1 a 20 mg/kg del peso corporal del paciente al día, siendo el rango inicial típico del compuesto utilizado de 0.3 a 15 mg/kg/día.

Los diluyentes, vehículos, excipientes y estabilizadores aceptables son no tóxicos a los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen amortiguadores tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservadores (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas; tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contra iones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (e.g., complejos de Zn-proteína); y/o surfactantes no iónicos

tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Los ingredientes farmacéuticos activos también pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas coloidales de suministro de fármacos (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980).

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida de los compuestos de la Fórmula I. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen un compuesto de la Fórmula I, cuyas matrices se encuentran en forma de artículos conformados, e.g., películas o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo poli(2-hidroxietil-metacrilato), o poli(vinil alcohol)), polilactidos (US 3773919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, etileno-vinil acetato no degradable, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como el LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para las vías de administración descritas en la presente. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos muy conocidos en la técnica farmacéutica. Las técnicas y formulaciones se encuentran generalmente en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general las formulaciones se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, conformar el producto.

Las formulaciones de un compuesto de la Fórmula I adecuadas para

administración oral pueden prepararse como unidades separadas tales como píldoras, cápsulas, sobres o tabletas cada una conteniendo una cantidad predeterminada de un compuesto de la Fórmula I. Pueden prepararse tabletas comprimidas comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservador, agente activo de superficie o dispersante. Las tabletas moldeadas pueden producirse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del ingrediente activo en polvo humectado con un diluyente líquido inerte. Las tabletas pueden recubrirse o marcarse opcionalmente y se formulan opcionalmente a fin de proporcionar la liberación lenta o controlada del ingrediente activo de las mismas. Las tabletas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, e.g., cápsulas de gelatina, jarabes o elíxires pueden prepararse para uso oral. Las formulaciones de los compuestos de la Fórmula I destinados a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de las composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes que incluyen agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes, y agentes conservadores, a fin de proporcionar una preparación agradable. Son aceptables las tabletas que contienen el ingrediente activo en mezcla con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable adecuado para la fabricación de tabletas. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio o sodio, lactosa, fosfato de calcio o sodio, agentes de granulación y desintegración tales como almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden estar no recubiertas o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas incluyendo microencapsulación para retardar su desintegración y adsorción en el tracto gastrointestinal y para proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Para el tratamiento del ojo u otros tejidos externos, e.g., boca y piel, las formulaciones se aplican preferentemente como un ungüento o crema tópica

que contiene el(los) ingrediente(s) activo(s) en una cantidad, por ejemplo, de 0.075 a 20% peso/peso. Cuando se formulan en un ungüento, los ingredientes activos pueden emplearse con una base en ungüento ya sea de parafina o miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base en crema de aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base en crema puede incluir un alcohol polihídrico, i.e., un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y sus mezclas. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que aumenta la absorción o la penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplos de tales aumentadores de penetración dérmica incluyen sulfóxido de dimetilo y análogos relacionados. La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede constituirse a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender solamente un emulsionante, ésta comprende deseablemente una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o aceite, o tanto con una grasa como con un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizador. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el(los) emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) conforman la llamada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa conforman la llamada base en ungüento emulsionante que forma la fase dispersada oleosa de las formulaciones en crema. Los emulsionantes y estabilizadores de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato de sodio.

Las suspensiones acuosas de los compuestos de la Fórmula I contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de las suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, croscarmelosa, povidona, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto, y goma acacia y agentes de dispersión o humectación tales como fosfatida de origen natural (e.g., lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquilenos con un ácido graso (e.g., estearato de polioxietileno), un

producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (e.g., heptadecaetilenoxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (e.g., monooleato de polioxietileno sorbitán). La suspensión acuosa también
5 puede contener uno o más conservadores tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las composiciones farmacéuticas de los compuestos de la Fórmula I pueden encontrarse en forma de una preparación estéril inyectable, tal como una
10 suspensión estéril inyectable, acuosa u oleaginoso. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizando los agentes de dispersión o humectación y los agentes de suspensión adecuados mencionados anteriormente. La preparación estéril inyectable también puede ser una solución o suspensión estéril inyectable en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente
15 aceptable, tal como una solución en 1,3-butanodiol o preparada como un polvo liofilizado. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente, pueden emplearse convencionalmente aceites fijos estériles como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito puede emplearse
20 cualquier aceite fijo suave incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, pueden utilizarse de manera similar ácidos grasos tales como el ácido oleico en la preparación de inyectables.

La cantidad del ingrediente activo que puede combinarse con el material vehículo para producir una forma de dosis única variará dependiendo del
25 huésped tratado y del modo de administración particular. Por ejemplo, una formulación de liberación por tiempo destinada a la administración oral a humanos puede contener de aproximadamente 1 a 1000 mg del material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente del material vehículo que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 99% de las composiciones totales
30 (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medibles para su administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del ingrediente activo por mililitro de la solución a fin de que pueda tener

lugar una infusión de un volumen adecuado a una tasa de aproximadamente 30 ml/hora.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones estériles para inyección, acuosas y no acuosas que pueden
5 contener antioxidantes, amortiguadores, bacteriostatos y solutos que hacen isotónica la formulación con la sangre del receptor destinado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica al ojo
10 también incluyen gotas para ojos en donde el ingrediente activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente un solvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo se encuentra presente preferentemente en tales formulaciones en una concentración de aproximadamente 0.5 a 20% peso/peso, por ejemplo, de aproximadamente 0.5 a 10% peso/peso, por ejemplo
15 de aproximadamente 1.5% peso/peso.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base saborizada, comúnmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y
20 acacia; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o
25 nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el rango de 0.1 a 500 micras (incluyendo tamaños de partícula en un rango entre 0.1 y 500 micras en incrementos en micras tales como 0.5, 1, 30 micras, 35 micras, etc.), que se administran mediante inhalación rápida a través del pasaje nasal o mediante
30 inhalación a través de la boca a fin de llegar a las cavidades alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para administración en aerosol o en polvo seco pueden prepararse de acuerdo con los métodos convencionales y pueden

suministrarse con otros agentes terapéuticos tales como los compuestos utilizados anteriormente en la presente en el tratamiento o la profilaxis de trastornos como se describe más adelante.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen además del ingrediente activo vehículos tales como los conocidos en la técnica por ser apropiados.

Las formulaciones pueden empacarse en contenedores de dosis unitaria o de dosis múltiples, por ejemplo, ampulas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que solamente requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, para su inyección inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se preparan a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo previamente descrito. Las formulaciones en dosis unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una sub-dosis diaria unitaria, como se citó anteriormente en la presente, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.

La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se definió anteriormente junto con un vehículo veterinario para las mismas. Los vehículos veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que de otra manera son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse parenteralmente, oralmente o por medio de cualquier otra vía deseada.

TERAPIA DE COMBINACIÓN

Los compuestos de la Fórmula I pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento de una enfermedad o trastorno descrito en la presente, tal como inflamación o un trastorno hiperproliferativo (e.g., cáncer). En ciertas modalidades, un compuesto de la Fórmula I se combina en una formulación farmacéutica de combinación, o en un régimen de dosificación como una terapia de combinación, con un segundo compuesto terapéutico que tiene propiedades anti-inflamatorias o anti-

hiperproliferativa o que es útil para tratar una inflamación, un trastorno de respuesta inmune, o un trastorno hiperproliferativo (e.g., cáncer). El segundo agente terapéutico puede ser un agente quimioterapéutico. El segundo compuesto de la formulación farmacéutica de combinación o del régimen de dosificación tiene preferentemente actividades complementarias al compuesto de la Fórmula I tales, que no se afectan adversamente entre sí. Tales compuestos se encuentran adecuadamente presentes en combinación en cantidades que son efectivas para el propósito destinado. En una modalidad, una composición de esta invención comprende un compuesto de la Fórmula I o un estereoisómero, tautómero, solvato, metabolito, o sal o profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con un agente terapéutico tal como NSAID.

La terapia de combinación puede administrarse como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra de manera secuencial, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones. La administración combinada incluye la co-administración utilizando formulaciones separadas o una sola formulación farmacéutica, y la administración consecutiva en cualquier orden, en donde preferentemente existe un período de tiempo mientras ambos (o todos) los agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas.

Las dosis adecuadas para cualquiera de los agentes anteriores co-administrados son las utilizadas actualmente y pueden disminuirse debido a la acción combinada (sinergia) del agente recientemente identificado y otros agentes o tratamientos terapéuticos.

La terapia de combinación puede proporcionar “sinergia” y probar ser “sinérgica”, i.e., el efecto logrado, cuando los ingredientes activos se utilizan conjuntamente, es mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de los compuestos por separado. Un efecto sinérgico puede lograrse cuando los ingredientes activos: (1) se co-formulan y se administran o se suministran simultáneamente en una formulación combinada en dosis unitaria; (2) se suministran mediante alternación o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) por medio de algún otro régimen. Cuando se suministran en terapia de alternación, puede lograrse un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o se suministran de manera secuencial, e.g., por medio de diferentes

inyecciones en jeringas separadas, píldoras o cápsulas separadas, o infusiones separadas. En general, durante la terapia de alternación, se administra una dosis efectiva de cada ingrediente activo secuencialmente, i.e., de manera serial, mientras que en la terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más ingredientes activos se administran conjuntamente.

En una modalidad particular de terapia, un compuesto de la Fórmula I, o un estereoisómero, tautómero, solvato, metabolito, o sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, puede combinarse con otro agente terapéutico, hormonal o de anticuerpo tal como los descritos en la presente, así como combinarse con terapia quirúrgica y radioterapia. Las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden por tanto la administración de al menos un compuesto de la Fórmula I, o un estereoisómero, tautómero, solvato, metabolito, o sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos otro método de tratamiento del cáncer. Las cantidades de el(los) compuesto(s) de la Fórmula I y de el(los) otro(s) agente(s) terapéutico(s) farmacéuticamente activo(s) y los tiempos relativos de administración se seleccionarán a fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

METABOLITOS DE LOS COMPUESTOS DE LA FÓRMULA I

También caen dentro del alcance de esta invención los productos metabólicos in vivo de la Fórmula I descrita en la presente. Tales productos pueden resultar por ejemplo de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, desamidación, esterificación, desesterificación, división enzimática y lo similar, del compuesto administrado. Por consiguiente, la invención incluye metabolitos de los compuestos de la Fórmula I, incluyendo los compuestos producidos mediante un proceso que comprende poner en contacto un compuesto de esta invención con un mamífero durante un período de tiempo suficiente para producir un producto metabólico del mismo.

Los productos metabólicos se identifican típicamente preparando un isótopo radio-etiquetado (e.g., ^{14}C o ^3H) de un compuesto de la invención, administrándolo parenteralmente en una dosis detectable (e.g., mayor que aproximadamente 0.5 mg/kg) a un animal tal como una rata, ratón, conejillo de indias, mono, o humano, permitiendo el tiempo suficiente para que se presente el

metabolismo (típicamente aproximadamente de 30 segundos a 30 horas) y aislando sus productos de conversión a partir de la orina, sangre u otras muestras biológicas. Estos productos se aíslan fácilmente debido a que están etiquetados (otros se aíslan por medio del uso de anticuerpos con la capacidad de enlazar epítopes que sobreviven en el metabolito). Las estructuras metabólicas se determinan de manera convencional, e.g., mediante análisis MS, LC/MS o NMR. En general, el análisis de los metabolitos se realiza de la misma manera que los estudios convencionales de metabolismo de fármacos muy conocidos por los expertos en la técnica. Los productos metabólicos, siempre que no se encuentren de otra manea in vivo, pueden ser útiles en análisis diagnósticos para la dosificación terapéutica de los compuestos de la invención.

ARTÍCULOS DE FABRICACIÓN

En otra modalidad de la invención, se proporciona un artículo de fabricación, o “equipo”, que contiene materiales útiles para el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos anteriormente. En una modalidad, el equipo comprende un contenedor que comprende un compuesto de la Fórmula I o un estereoisómero, tautómero, solvato, metabolito o salo profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. El equipo puede comprender además una etiqueta o inserto de paquete, sobre o asociado con el contenedor. El término “inserto de paquete” se utiliza para referirse a las instrucciones comúnmente incluidas en paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información acerca de las indicaciones, usos, dosis, administración, contraindicaciones y/o advertencias respecto al uso de tales productos terapéuticos. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, paquetes de burbuja, etc. El contenedor puede formarse a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El contenedor puede contener un compuesto de la Fórmula I o una formulación del mismo que es efectivo para tratar la condición y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa o un vial de solución intravenosa que tiene un obturador que puede perforarse mediante una aguja hipodérmica de inyección). Al menos uno de los agentes activos en la composición es un compuesto de la Fórmula I. La etiqueta o inserto de paquete indica que la composición se utiliza para tratar la condición seleccionada, tal como el cáncer. Adicionalmente, la

etiqueta o inserto de paquete puede indicar que el paciente que va a tratarse es uno que tiene un trastorno tal como un trastorno hiperproliferativo, neurodegeneración, hipertrofia cardíaca, dolor, migraña o una enfermedad o evento neurotraumático. En una modalidad, la etiqueta o inserto de paquete indica que la composición que comprende un compuesto de la Fórmula I puede utilizarse para tratar un trastorno que resulta de un crecimiento celular anormal. La etiqueta o inserto de paquete también puede indicar que la composición puede utilizarse para tratar otros trastornos. Alternativa o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo contenedor que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Éste puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

El equipo puede comprender además direcciones para la administración del compuesto de la Fórmula I y, si está presente, de la segunda formulación farmacéutica. Por ejemplo, si el equipo comprende una primera composición que comprende un compuesto de la Fórmula I, y una segunda formulación farmacéutica, el equipo puede comprender además direcciones para la administración simultánea, secuencial o separada de las composiciones farmacéuticas primera y segunda a un paciente que lo necesita.

En otra modalidad, los equipos son adecuados para el suministro de formas orales sólidas de un compuesto de la Fórmula I, tales como tabletas o cápsulas. Tal equipo incluye preferentemente numerosas dosis unitarias. Tales equipos pueden incluir una tarjeta que tiene las dosis orientadas en el orden de su uso destinado. Un ejemplo de tal equipo es un “paquete de burbuja”. Los paquetes de burbuja son muy conocidos en la industria empaquera y se utilizan ampliamente para empaquetar formas farmacéuticas de dosis unitaria. Si se desea, puede proporcionarse un auxiliar de memoria, por ejemplo en forma de números, letras u otras marcas o con un inserto calendario, designando los días en el esquema de tratamiento en los cuales pueden administrarse las dosis.

De acuerdo con una modalidad, un equipo puede comprender (a) un primer contenedor con un compuesto de la Fórmula I contenido en el mismo; y

opcionalmente (b) un segundo contenedor con una segunda formulación farmacéutica contenida en el mismo, en donde la segunda formulación farmacéutica comprende un segundo compuesto con actividad anti-hiperproliferativa. Alternativamente o adicionalmente, el equipo puede comprender además un tercer contenedor que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Éste puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

En ciertas modalidades, en donde el equipo comprende una composición de la Fórmula I y un segundo agente terapéutico, el equipo puede comprender un contenedor para contener las composiciones separadas tal como una botella dividida o un paquete dividido de hoja de aluminio, sin embargo, las composiciones separadas también pueden estar contenidas dentro de un contenedor único, no dividido. Típicamente, el equipo comprende direcciones para la administración de los componentes separados. La forma del equipo es particularmente ventajosa cuando los componentes separados se administran preferentemente en formas de dosis diferentes (e.g., oral y parenteral), cuando se administran en diferentes intervalos de dosis o cuando el médico que prescribe desea la titulación de los componentes individuales de la combinación.

PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA FÓRMULA I

Los compuestos de la Fórmula I pueden sintetizarse mediante vías sintéticas que incluyen procesos análogos a aquellos muy conocidos en la técnica química, particularmente a la luz de la descripción contenida en la presente, y a aquellos para otros heterociclos descritos en: Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, (Química heterocíclica exhaustiva II), Editores Katritzky y Rees, Elsevier, 1997, e.g. Volumen 3; Liebigs Annalen der Chemie, (9):1910-16, (1985); Helvetica Chimica Acta, 41:1052-60, (1958); Arzneimittel-Forschung, 40(12):1328-31, (1990), cada una de las cuales se encuentra expresamente incorporada mediante la referencia. Los materiales de inicio se encuentran disponibles generalmente de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) o se preparan fácilmente utilizando métodos muy conocidos por los expertos

en la técnica (e.g., se preparan mediante métodos generalmente descritos en Louis F. Fieser y Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, (Reactivos para síntesis orgánica) v. 1-23, Wiley, N.Y. (1967-2006 ed.), o *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, incluyendo suplementos (también disponibles a través de la base de datos Beilstein en línea.

Las transformaciones de química sintética y las metodologías de grupo de protección (protección y desprotección) útiles en la sintetización de los compuestos de la Fórmula I y los reactivos e intermediarios necesarios se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, los descritos en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, (Transformaciones orgánicas exhaustivas) VCH Publishers (1989); T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (Grupos de protección en la síntesis orgánica) 3a Ed., John Wiley and Sons (1999); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, (Enciclopedia de reactivos para síntesis orgánica) John Wiley and Sons (1995) y sus subsecuentes ediciones.

Los compuestos de la Fórmula I pueden prepararse solos o como bibliotecas compuestas que comprenden al menos 2, por ejemplo de 5 a 1,000 compuestos, o de 10 a 100 compuestos. Las bibliotecas de los compuestos de la Fórmula I pueden prepararse por medio de un procedimiento combinatorio de “separación y mezclado” o mediante múltiples síntesis paralelas utilizando química ya sea en fase de solución o en fase sólida, mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Por tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona una biblioteca compuesta que comprende al menos 2 compuestos, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Las Figuras y Ejemplos proporcionan métodos ejemplares para preparar los compuestos de la Fórmula I. Los expertos en la técnica apreciarán que pueden utilizarse otras vías sintéticas para sintetizar los compuestos de la Fórmula I. Aunque en las Figuras y Ejemplos se representan y se exponen materiales de inicio y reactivos específicos, otros materiales de inicio y reactivos pueden sustituirse fácilmente para proporcionar una variedad de derivados y/o condiciones de reacción. Adicionalmente, muchos de los compuestos ejemplares preparados por medio de los métodos descritos pueden modificarse adicionalmente a la luz de esta descripción utilizando química convencional muy

conocida por los expertos en la técnica.

Al preparar los compuestos de la Fórmula I, puede ser necesaria la protección de la funcionalidad remota (e.g., amina primaria o secundaria) de los intermediarios. La necesidad de tal protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad remota y de las condiciones de los métodos de preparación. Los grupos de protección amino adecuados incluyen acetilo, trifluoroacetilo, t-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBz) y 9-fluorenilmetilenoxicarbonilo (Fmoc). La necesidad de tal protección se determina fácilmente por el experto en la técnica. Para una descripción general de los grupos de protección y su uso, ver T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis (Grupos de protección en la síntesis orgánica), John Wiley & Sons, New York, 1991.

Pueden encontrarse procedimientos experimentales, intermediarios y reactivos útiles para la preparación de los compuestos de la Fórmula I en la US Serie No. 13/102720, "PYRIDONE AND AZA-PYRIDONE COMPOUNDS AND METHODS OF USE" (Compuestos de piridona y aza-piridona y métodos de uso), presentada el 6 de mayo de 2011, que se incorpora mediante la referencia en su totalidad.

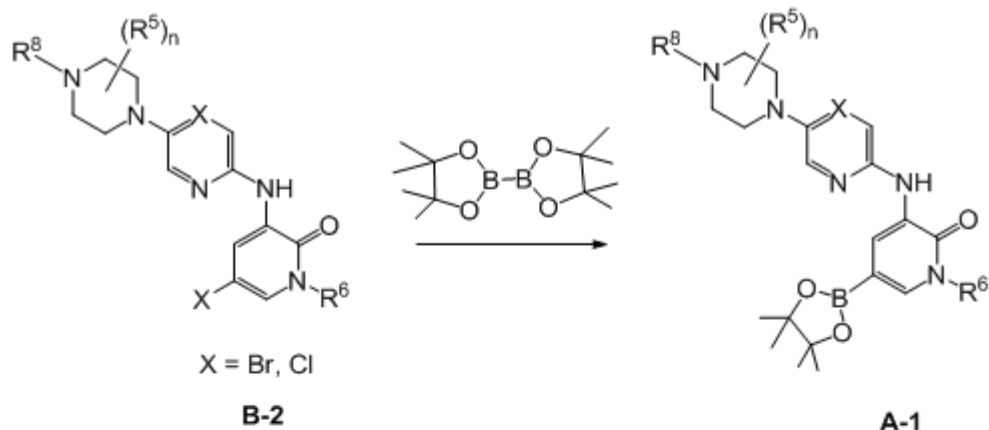
Las Figuras 1 a 12 describen la síntesis de las modalidades ejemplares de los compuestos de la Fórmula I 101 a 125, más completamente descritos en los Ejemplos 101 a 112 y pueden ser útiles para la preparación de otros compuestos de la Fórmula I.

PROCEDIMIENTOS PREPARATIVOS GENERALES

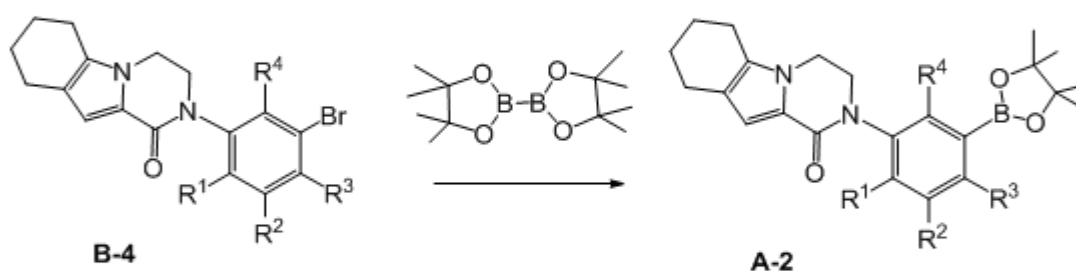
Procedimiento General: Acoplamiento Suzuki

5

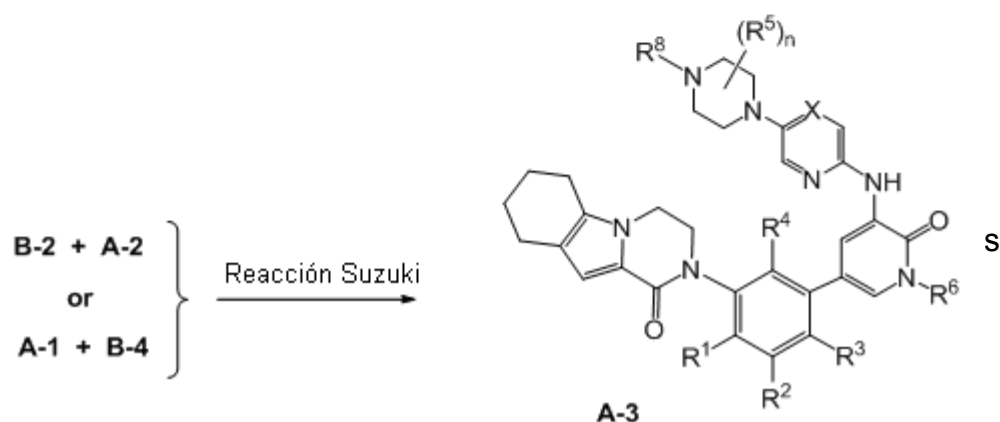
10



15



20



25

de carbono-carbono para unir los anillos de los compuestos de la Fórmula I e intermediarios tales como A-3 (Suzuki (1991) Pure Appl. Chem. 63:419-422; Miyaura y Suzuki (1979) Chem. Reviews 95(7):2457-2483; Suzuki (1999) J. Organometal. Chem. 576:147-168). El acoplamiento Suzuki es una reacción de acoplamiento cruzado mediada por paladio de un arilhaluro, tal como B-2 o B-4, con un ácido borónico tal como A-1 o A-2. Por ejemplo, B-2 puede combinarse con aproximadamente 1.5 equivalentes de 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-

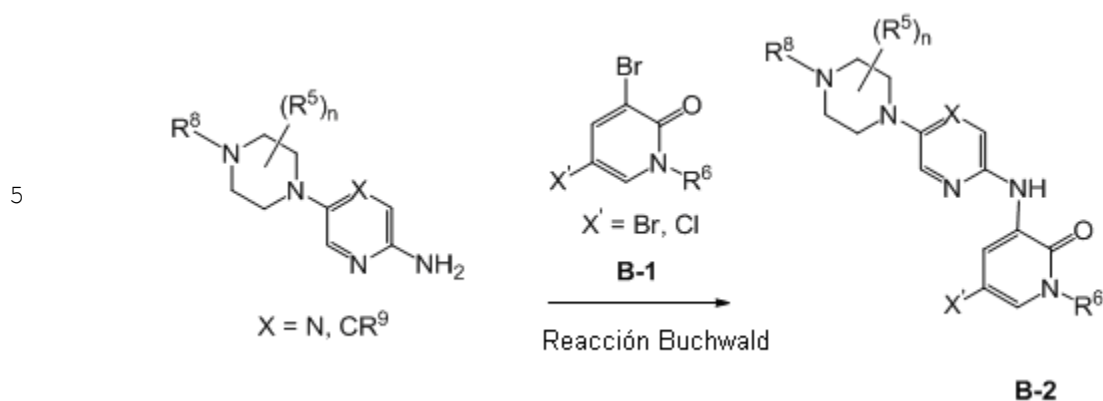
30

dioxaborolano) y disolverse en aproximadamente 3 equivalentes. Se agrega una cantidad catalítica, o más, de un reactivo de paladio de baja valencia, tal como, dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II). En algunos casos se utiliza acetato de potasio en lugar de carbonato de sodio para ajustar el pH de la capa acuosa. La reacción se calienta entonces a aproximadamente 140 a 150°C bajo presión en un reactor de microondas (Biotage AB, Uppsala, Suecia) durante 10 a 30 minutos. El contenido se extrae con etil acetato, u otro solvente orgánico. Después de la evaporación de la capa orgánica el éster de boro A-1 puede purificarse en sílice o mediante HPLC en fase inversa. Los sustituyentes son como se definieron, o sus formas o precursores protegidos. De manera similar, el intermediario de bromuro B-4 puede ser boronilado para proporcionar A-2.

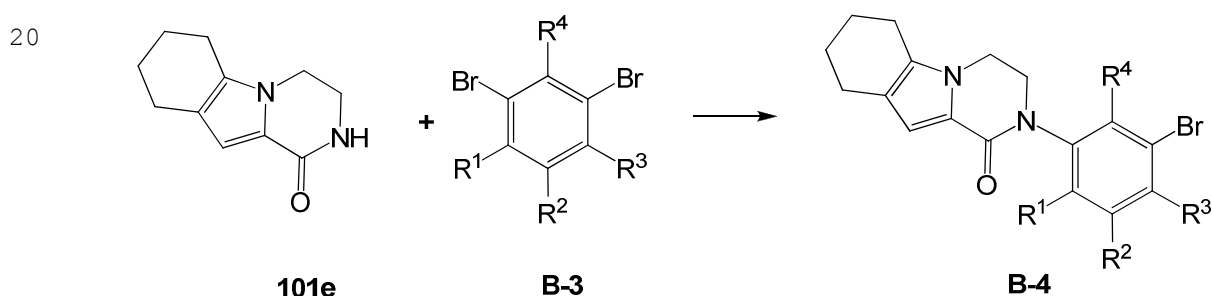
El acoplamiento Suzuki de B-2, o de A-1 y B-4 proporciona el compuesto de la Fórmula I o el intermediario A-3. El éster (o ácido) borónico (1.5 eq.) A-1 o A-2, y un catalizador de paladio tal como cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (0.05 eq.) se agrega a una mezcla del intermediario halo (1 eq.) B-2 o B-4 en acetonitrilo y 1 M de solución acuosa de carbonato de sodio (igual volumen que el acetonitrilo). La mezcla de reacción se calienta a aproximadamente 150°C en un microondas durante aproximadamente 15 minutos. La LC/MS indica cuándo se completa la reacción. Se agrega agua a la mezcla y el producto precipitado se filtra y se purifica mediante HPLC para proporcionar el producto A-3. Los sustituyentes son como se definieron, o sus formas o precursores protegidos.

Puede utilizarse una variedad de catalizadores de paladio durante la etapa de acoplamiento Suzuki. Pueden utilizarse varios catalizadores de Pd(II) y Pd(0) de baja valencia en la reacción de acoplamiento Suzuki, incluyendo PdCl₂(PPh₃)₂, Pd(t-Bu)₃, PdCl₂ dppf CH₂Cl₂, Pd(PPh₃)₄, Pd(OAc)/PPh₃, Cl₂Pd[(Pet₃)]₂, Pd(DIPHOS)₂, Cl₂Pd(Bipy), [PdCl(Ph₂PCH₂PPh₂)]₂, Cl₂Pd[P(o-tol)₃]₂, Pd₂(dba)₃/P(o-tol)₃, Pd₂(dba)/P(furilo)₃, Cl₂Pd[P(furilo)₃]₂, Cl₂Pd(PMePh₂)₂, Cl₂Pd[P(4-F-Ph)₃]₂, Cl₂Pd[P(C₆F₆)₃]₂, Cl₂Pd[P(2-COOH-Ph)(Ph)₂]₂, Cl₂Pd[P(4-COOH-Ph)(Ph)₂]₂, y los catalizadores encapsulados Pd EnCat™ 30, Pd EnCat™ TPP30, y Pd(II)EnCat™ BINAP30 (US 2004/0254066).

Procedimiento General: Reacción Buchwald



La reacción Buchwald es útil para aminor intermediarios de 6-bromo N-1 (Wolf y
 10 Buchwald (2004) Org. Synth Coll. Vol. 10:423; Paul et al (1994) Jour. Amer. Chem.
 Soc. 116:5969-5970). A una solución del intermediario 3,5-dihalo-piridona B-1 en
 DMF se agrega la 5-(piperazin-1-il)piridin-2-amina apropiada, e.g. 104b, o la 5-
 (piperazin-1-il)pirazin-2-amina (200 mol %), Cs_2CO_3 (50 mol%), $Pd_2(dba)_3$ (5
 mol%), y 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimethylxanteno (Xantphos, CAS Reg. No.
 15 161265-03-8, 10 mol%). La reacción se calienta a aproximadamente 110°C bajo
 presión en un reactor de microondas (Biotage AB, Uppsala, Suecia) durante
 aproximadamente 30 minutos. La solución resultante se concentra in vacuo para
 proporcionar B-2. Pueden ser útiles otros catalizadores de paladio y ligandos de
 fosfina.



25 Los intermediarios de N-Aril amida B-4 también pueden prepararse
 bajo condiciones Buchwald con intermediarios de amida cíclica (R7) tales como
 3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 101e y bromuros de arilo B-3.

MÉTODOS DE SEPARACIÓN

30

En los métodos para preparar los compuestos de la Fórmula I, puede
 ser ventajoso separar los productos de reacción uno del otro y/o de los materiales
 de inicio. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separan y/o

se purifican al grado de homogeneidad deseado mediante las técnicas comunes en la técnica. Típicamente tales separaciones implican extracción de fase múltiple, cristalización a partir de un solvente o mezcla de solventes, destilación, sublimación o cromatografía. La cromatografía puede implicar cualquier número
5 de métodos que incluyen, por ejemplo: fase inversa y fase normal; exclusión por tamaño; intercambio de ion; métodos y aparatos de cromatografía líquida a presión alta, media y baja; analítica a pequeña escala; cromatografía de lecho móvil simulado (SMB) y de preparación de capa delgada o gruesa, así como técnicas de cromatografía de capa delgada a pequeña escala e instantánea.

Otra clase de métodos de separación implica el tratamiento de una
mezcla con un reactivo seleccionado para enlazarse a o para hacer de otra
manera separable un producto deseado, un material de inicio no reactivado, un
subproducto de reacción, o lo similar. Tales reactivos incluyen adsorbentes o
absorbentes tales como carbono activado, tamices moleculares, medios de
15 intercambio de ion, o lo similar. Alternativamente, los reactivos pueden ser ácidos en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de enlace tales como anticuerpos, proteínas de enlace, queladores selectivos tales como éteres de corona, reactivos de extracción de ion líquido/líquido (LIX), o lo similar. La selección de los métodos apropiados de
20 separación depende de la naturaleza de los materiales involucrados, tal como, el punto de ebullición y el peso molecular en la destilación y la sublimación, la presencia o ausencia de los grupos polares funcionales en la cromatografía, la estabilidad de los materiales en el medio ácido y básico en la extracción de fases múltiples, y lo similar.

Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus
diastereómeros individuales en base a sus diferencias físico-químicas mediante
métodos muy conocidos por los expertos en la técnica, tales como cromatografía
y/o cristalización fraccional. Los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la
mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica mediante la reacción con un
30 compuesto ópticamente activo apropiado (e.g., un auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido Mosher), separando los diastereómeros y convirtiendo (e.g., hidrolizando) los diastereómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. También, algunos de los compuestos de la

presente invención pueden ser atropisómeros (e.g., biarilos sustituidos) y se consideran como parte de esta invención. Los enantiómeros también pueden separarse mediante el uso de una columna quiral de HPLC.

Un solo estereoisómero, e.g., un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero puede obtenerse mediante la resolución de la mezcla racémica utilizando un método tal como la formación de diastereómeros utilizando agentes de resolución ópticamente activos (Eliel, E. y Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds" (Estereoquímica de compuestos orgánicos) John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994; Lochmuller C.H. (1975) J. Chromatogr., 113(3):283-302). Las mezclas racémicas de los compuestos quirales de la invención pueden separarse y aislarse mediante cualquier método adecuado incluyendo: (1) formación de sales iónicas, diastereoméricas con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccional u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos quirales de derivación, separación de los diastereómeros y conversión a estereoisómeros puros, y (3) separación de estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente bajo condiciones quirales. Ver "Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology" (Estereoquímica, métodos analíticos y farmacología de fármacos), Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1993).

Bajo el método (1), pueden formarse sales diastereoméricas mediante la reacción de bases quirales enantioméricamente puras tales como brucina, quinina, efedrina, estricnina, α -metil- β -feniletilamina (anfetamina), y lo similar, con compuestos asimétricos que contienen funcionalidad acídica, tales como ácido carboxílico y ácido sulfónico. Las sales diastereoméricas pueden inducirse a la separación mediante cristalización fraccional o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de compuestos amino, la adición de ácidos quirales carboxílicos o sulfónicos, tales como ácido canforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico o ácido láctico, puede dar como resultado la formación de sales diastereoméricas.

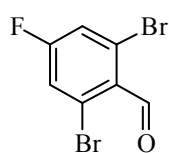
Alternativamente, mediante el método (2), el sustrato que va a disolverse se hace reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diastereomérico (E. y Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds" (Estereoquímica de compuestos orgánicos) John Wiley & Sons, Inc.,

1994, p. 322). Los compuestos diastereoméricos pueden formarse haciendo reaccionar los compuestos asimétricos con reactivos de derivación quirales enantioméricamente puros, tales como los derivados de mentilo, seguido por la separación de los diastereómeros y la hidrólisis para producir el enantiómero puro o enriquecido. Un método para determinar la pureza óptica involucra producir ésteres quirales, tales como mentil éster, e.g., cloroformato de (-)-mentilo en presencia de una base, o éster Mosher, α -metoxi- α -(trifluorometil)fenil acetato (Jacob III, J.Org. Chem (1982) 47:4165) de la mezcla racémica y analizar el espectro ^1H NMR por la presencia de los dos enantiómeros o diastereómeros atropisoméricos. Los diastereómeros estables de compuestos atropisoméricos pueden separarse y aislarse mediante cromatografía en fase normal e inversa siguiendo los métodos para la separación de naftil-isoquinolinas atropisoméricas (WO 96/15111). Mediante el método (3), una mezcla racémica de dos enantiómeros puede separarse mediante cromatografía utilizando una fase quiral estacionaria ("Chiral Liquid Chromatography" (Cromatografía quiral líquida) (1989) W. J. Lough, ED., Chapman y Hall, New York; Okamoto, J. Chromatogr., (1990) 513:375-378). Los enantiómeros enriquecidos o purificados pueden distinguirse mediante métodos utilizados para distinguir otras moléculas quirales con átomos de carbono asimétricos, tales como rotación óptica y dicroísmo circular.

EJEMPLOS

Ejemplo 101a

2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído 101a

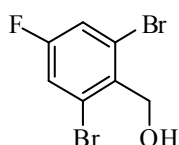


101a

Una solución de 1,3-dibromo-5-fluoro-2-yodobenceno (50 g, 132 mmol) en tolueno anhidro (300 ml) se enfrió a -35°C . Una solución de cloruro de isopropilmagnesio (84 ml, 171 mmol, 2.0 M en dietil éter) durante un período de 30 minutos mientras se mantuvo la temperatura interna por debajo de -25°C . Ver Figura 1. Se obtuvo una solución café claro. Continuó la agitación durante 1.5 horas. Después se agregó DMF anhidro (34 ml, 436 mmol) durante un período de 30 minutos. La temperatura de la mezcla de reacción se incrementó a -19°C . La mezcla de reacción se calentó a 10°C (temperatura ambiente) por 1 hora y se

agitó a esta temperatura durante 1.5 horas. La reacción se templó con NH_4Cl saturado acuoso (100 ml), se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice (eluyendo con éter de petróleo/etil acetato: de 50:1 a 20:1) para proporcionar 101a (20 g, rendimiento 54%) como un sólido amarillo.

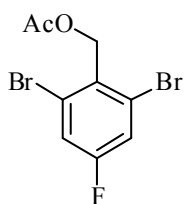
Ejemplo 101b 2,6-dibromo-4-fluorofenil)metanol 101b



101b

A una solución de 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído 101a (20 g, 71 mmol) en etanol (500 ml) se agregó NaBH_4 (10 g, 284 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente (10°C) durante 4 horas. La TLC mostró que desapareció el material de inicio. La reacción se templó con solución de HCl (150 ml, 1 M). La mayor parte del etanol se evaporó a presión reducida. El residuo se extrajo mediante etil acetato (3×500 ml). La capa orgánica se combinó y se secó con Na_2SO_4 anhidro, y se evaporó in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice (eluyendo con éter de petróleo/etil acetato: de 50:1 a 20:1) para proporcionar 101b (15 g, rendimiento 75%) como un sólido blanco.

Ejemplo 101c 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c

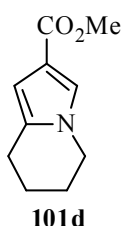


101c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 500-ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se cargó con 101b (23.0 g, 81.0 mmol), trietil amina (25.0 g, 247 mmol) en cloruro de metileno anhidro (100 ml). Se agregó anhídrido acético (10.0 g, 98.0 mmol) y esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de este tiempo, la mezcla se diluyó con cloruro de metileno (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio

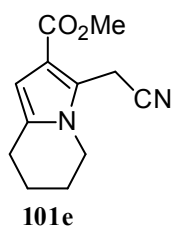
saturado acuoso (100 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (2 × 20 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración. El filtrado se concentró bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, 0% a 50% de etil acetato/hexanos) para proporcionar 101c en 87% de rendimiento (23.0 g) como un sólido blanco.

Ejemplo 101d metil 5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 112d



Un matraz de fondo redondo de 500 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con ácido 5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxílico (30.4 g, 184 mmol), DMF (1.00 g, 13.6 mmol) y cloruro de metileno (300 ml). La solución se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo. Se agregó por goteo cloruro de oxalilo (28.0 g, 221 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se agitó durante 5 horas. Después de este tiempo, la solución resultante se concentró para proporcionar un sólido café. Este sólido se disolvió en metanol anhidro (400 ml), y la solución se enfrió a 0°C. Se agregó trietilamina (57 g, 552 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó durante 2 horas adicionales a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida. El residuo se diluyó con cloruro de metileno (300 ml) y se lavó con agua (200 ml) y bicarbonato de sodio saturado acuoso (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se tituló con hexano (200 ml) para proporcionar 101d en 58% de rendimiento (19.1 g) como un sólido blanco: mp 72–74°C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7.13 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.93 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 3.77 (s, 3H), 2.75 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.93 (m, 2H), 1.80 (m, 2H); (APCI+) m/z 180.1 (M+H)

Ejemplo 101e metil 3-(cianometil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 101e



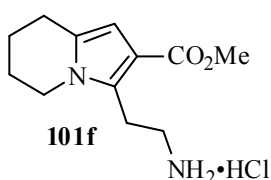
Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 500 ml equipado con un embudo de adición, un termómetro y se cargó con metil 5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 101d (6.70 g, 37.4 mmol), yodoacetoneitrilo (12.5 g, 74.9 mmol), heptahidrato de sulfato de hierro (II) (5.20 g, 18.7 mmol) y sulfóxido de dimetilo (250 ml). Se agregó por goteo peróxido de hidrógeno (35%, 18.2 g, 187 mmol) a la mezcla en 1 hora a través de una bomba de jeringa a temperatura ambiente utilizando un baño de agua. Se agregó heptahidrato de sulfato de hierro (II) (2 a 3 equivalentes) a la mezcla de reacción en porciones para mantener la temperatura entre 25°C y 35°C, hasta que el color de la mezcla de reacción fue rojo oscuro. Si las TLCs mostraron la reacción no completada, se agregó después más peróxido de hidrógeno (2 a 3 equivalentes) y más heptahidrato de sulfato de hierro (II) (1 a 2 equivalentes) de la misma manera hasta que la reacción se completó. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se dividió entre solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (200 ml) y etil acetato (400 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de tiosulfato de sodio (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un 78% de rendimiento (6.40 g) del 101e como un aceite amarillo: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.23 (s, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.94 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 3.81 (s, 3H), 2.74 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 2.00 (m, 2H), 1.83 (m, 2H); (APCI⁺) m/z 219.3 (M+H).

20

25

Ejemplo 101f sal de hidrógeno cloruro de metil 3-(2-aminoetil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 101f

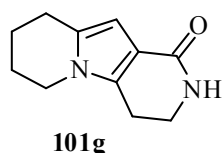
30



Metil 3-(cianometil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 101e se hidrogenó con catalizador de óxido de platino bajo 50 psi de hidrógeno en etanol y etil acetato en presencia de cloruro de hidrógeno durante la noche a temperatura ambiente para proporcionar 101f (380 mg, 1.74 mmol) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Ejemplo 101g 3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona

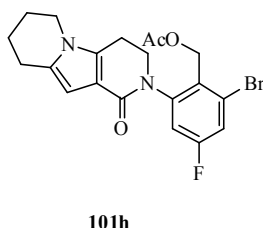
101g



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y una entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con sal de cloruro de hidrógeno de metil 3-(2-aminoetil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-2-carboxilato 101f (preparada anteriormente, estimado 1.74 mmol, rendimiento cuantitativo supuesto), etóxido de sodio (354 mg, 5.22 mmol) y etanol (20 ml). La mezcla se agitó a 55°C durante 5 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (200 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un 67% de rendimiento (220 mg) de 101g como un sólido blanco: mp 195–197°C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 6.76 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 3.78 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 3.35 (m, 2H), 2.66 (m, 4H), 1.87 (m, 2H), 1.72 (m, 2H); (APCI+) m/z 191.3 (M+H).

Ejemplo 101h

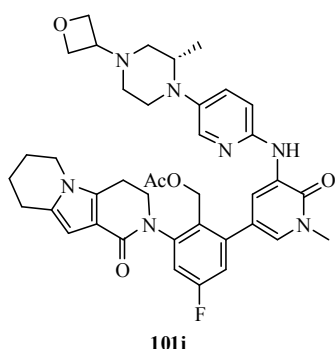
2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]-indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 101h



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado

con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (60 ml), 101c (1.9 g, 6.0 mmol), 101g (400 mg, 2.0 mmol), y carbonato de cesio (1.3 g, 4.0 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 30 minutos, se agregó Xantphos (120 mg, 0.2 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (180 mg, 0.2 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 12 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se dividió entre etil acetato (40 ml) y agua (40 ml), y se filtró. La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (70 ml × 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó sobre una columna instantánea eluyendo con 2:1 de PE/EA para proporcionar 101h (421 mg, 46%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 435. ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.52-7.50 (m, 1H), 7.20-7.23 (m, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.10-5.20 (m, 2H), 4.06-4.12 (m, 1H), 3.92-3.97 (m, 1H), 3.83-3.88 (m, 1H), 3.75-3.79 (m, 1H), 3.03-3.10 (m, 1H), 2.94-2.99 (m, 1H), 2.75-2.83 (m, 2H), 2.00-2.05 (m, 5H), 1.83-1.88 (m, 2H).

Ejemplo 101i (S)-4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 101i

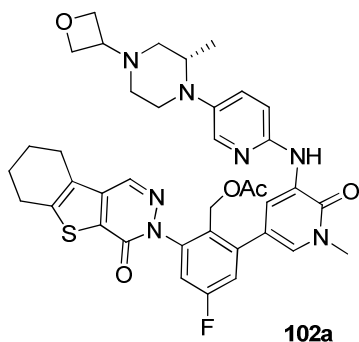


Una mezcla de 101h (300 mg, 0.70 mmol), (S)-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona (332 mg, 0.70 mmol), CH₃COONa (114 mg, 1.4 mmol), K₃PO₄ (368 mg, 1.4 mmol), PdCl₂(dppf) (56 mg, 0.07 mmol), CH₃CN (25 ml), y H₂O (1 ml) se calentó a 100°C durante 3 horas. Después se evaporó y el residuo se purificó mediante columna de gel de sílice eluyendo con cloruro de metileno/metanol (30:1) para proporcionar 101i (293 mg, rendimiento 41 %) como un sólido café. MS: (M+H)⁺ 710.

Ejemplo 101 (S)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona 101

A una solución de 101i (270 mg, 0.38 mmol) en propan-2-ol (8 ml), tetrahidrofurano (8 ml), y agua (1.5 ml) se agregó LiOH (914 mg, 38 mmol). La mezcla se agitó a 30°C durante 2 horas. Se evaporó y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 101 (127 mg, rendimiento 50%) como un sólido blanco. MS: (M+H)⁺ 669. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.58 (t, J=2.5, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.85 (d, J=3.0, 1H), 7.35-7.38 (m, 2H), 7.22-7.25 (m, 2H), 7.13-7.16 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.57-4.54 (m, 2H), 4.47 (t, J=6.0, 1H), 4.42 (t, J=6.5, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.98-4.04 (m, 1H), 3.89-3.94 (m, 1H), 3.78-3.83 (m, 2H), 3.67 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.37-3.42 (m, 1H), 3.00-3.10 (m, 2H), 2.90-2.95 (m, 2H), 2.71 (t, J=6.0, 2H), 2.52-2.55 (m, 1H), 2.28-2.35 (m, 2H), 2.18 (t, J=8.5, 1H), 1.89-1.94 (m, 2H), 1.72-1.78 (m, 2H), 0.93 (t, J=6.5, 3H).

Ejemplo 102a (S)-[4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0.2,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil]metil acetato 102a



Siguiendo los procedimientos como se describen para 101i y comenzando con (4-fluoro-2-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0.2,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}-6-(tetra-metil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato (250 mg) y 5-bromo-1-metil-3-(3-metil-5-(4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona (218 mg), se produjo 102a como un sólido amarillo (225 mg, 62%). LCMS: [M+H]⁺ 726. Ver Figura 2.

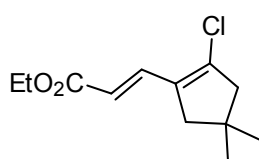
Ejemplo 102 (S)-5-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil]-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0.2,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-6-ona 102

Siguiendo los procedimientos como se describen para 101, la

hidrolisis de 102a (210 mg, 0.29 mmol) con hidróxido de litio produjo 102 como un sólido blanco (117 mg, 85%). LCMS: $[M+H]^+$ 684. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.61 (d, $J=2.5$, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.99 (d, $J=2.5$, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.46 (d, $J=2.0$, 1H), 7.29-7.32 (m, 2H), 7.11 (dd, $J=2.0$, 8.0, 1H), 6.82 (d, $J=9.0$, 1H), 4.62-4.73 (m, 4H), 4.31 (d, $J=6.5$, 2H), 4.02 (t, $J=6.5$, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.52-3.55 (m, 1H), 3.45-3.49 (m, 1H), 3.09 (t, $J=4.5$, 2H), 2.99 (t, $J=4.5$, 2H), 2.87 (t, $J=4.5$, 2H), 2.56 (dd, $J=3.0$, 11.0, 1H), 2.46-2.49 (m, 2H), 2.19-2.25 (m, 1H), 1.96-2.01 (m, 4H), 1.00 (d, $J=6.0$, 3H).

Ejemplo 103a (E)-etil 3-(2-cloro-4,4-dimetilciclopent-1-enil)acrilato

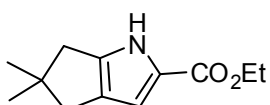
103a



103a

Los siguientes dos procedimientos se adaptaron de Organic Preparations and Procedures Int., 29 (4), 471-498. Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 500 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se cargó con 2-cloro-4,4-dimetilciclopent-1-enocarbaldehído (38 g, 240 mmol) en benceno (240 ml). Ver Figura 3. A la solución se agregó trifenilfosforano de etoxycarbonilmetileno (84 g, 240 mmol). La mezcla se agitó durante 14 horas. Después de ese tiempo, el solvente se evaporó y el residuo se trituró con hexanos (2 l) para extraer el producto de los subproductos de PPh_3 . La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna utilizando un gradiente de 100% de hexano – 1:1 de hexano/etil acetato para proporcionar un 37% de rendimiento (20 g) de 103a.

Ejemplo 103b etil 5,5-dimetil-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[b]pirrolo-2-carboxilato 103b

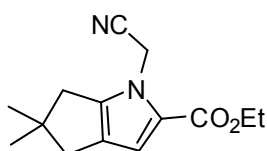


103b

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado

con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se cargó con 103a (17 g, 74 mmol) en DMSO (100 ml). A la solución se agregó azida de sodio (9.6 g, 150 mmol). La mezcla se calentó entonces a 75°C y se agitó durante 8 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se agregó H₂O (100 ml) y CH₂Cl₂ (200 ml) y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna utilizando un gradiente de 100% de hexano – 1:1 hexano/etil acetato para proporcionar un rendimiento de 37% (5.7 g) de 103b.

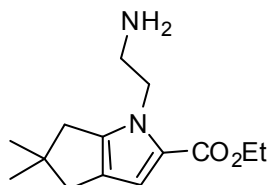
Ejemplo 103c etil 1-(cianometil)-5,5-dimetil-1,4,5,6-tetrahidrociclo-penta[b]pirrolo-2-carboxilato 103c



103c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se cargó con 103b (6.2 g, 30 mmol) en DMF (57 ml). A la solución se agregó NaH (80% dispersión en aceite mineral, 1.26 g, 42.1 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de ese tiempo, se agregó bromoacetronitrilo (2.94 ml, 42 mmol). La mezcla se agitó durante 14 horas. Después de ese tiempo, se agregó agua (100 ml) y etil acetato (200 ml) y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 X 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 95% (7 g) de 103c.

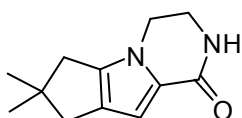
Ejemplo 103d hidrocloreuro de etil 1-(2-aminoetil)-5,5-dimetil-1,4,5,6-tetrahidrociclo-penta[b]pirrolo-2-carboxilato 103d



103d

Una botella de reactor Parr de 500 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 2.0 g peso en seco), 103c (4.5 g, 18 mmol), ácido clorhídrico al 12% (9.2 ml, 37 mmol), etil acetato (80 ml) y etanol (52 ml). La botella se unió a un hidrogenador Parr, se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno a una presión de 50 psi y se agitó durante 6 horas. Después de este tiempo, el hidrógeno se evacuó, y se cargó nitrógeno en la botella. Se agregó Celite 521 (10.0 g), y la mezcla se filtró a través de un parche de Celite 521. La masa del filtro se lavó con etanol (2 × 50 ml), y los filtrados combinados se concentraron hasta secar bajo presión reducida. El residuo crudo 103d se transportó hacia la siguiente etapa sin purificación adicional.

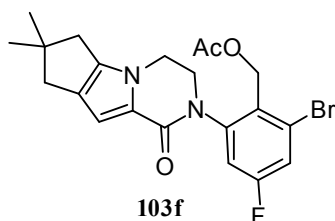
Ejemplo 103e 4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-9-ona 103e



103e

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 103d crudo (~18 mmol), etóxido de sodio (6.2 g, 92 mmol) y etanol (120 ml). La mezcla se agitó a 55°C durante la noche. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (200 ml) y agua (100 ml). La solución se filtró. El sólido se lavó con etil acetato (15 ml) para proporcionar 850 mg del producto deseado 103e. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida casi hasta secar. La solución se filtró y el sólido (1.44 g) se lavó con etil acetato (15 ml). Los sólidos combinados se secaron bajo vacío para proporcionar un rendimiento de 61% (2.3 g) de 103e.

Ejemplo 103f 2-bromo-4-fluoro-6-(9-oxo-4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]-dodeca-2(6),7-dien-10-il)bencil acetato 103f



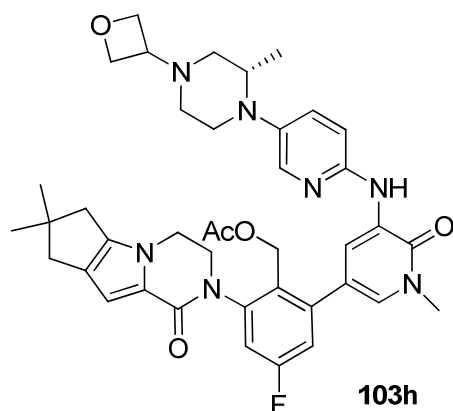
103f

Un tubo sellado se equipó con un agitador magnético y se cargó con
 5 103e (740 mg, 3.6 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c (2.4 g, 7.2
 mmol) y carbonato de cesio (2.6 g, 7.9 mmol) en 1,4-dioxano (36 ml). Después de
 burbujear nitrógeno a través de la solución durante 30 minutos, se agregó
 Xantphos (250 mg, 0.43 mmol) y tris(dibencilidenoacetona) dipaladio(0) (260 mg,
 0.29 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 16 horas.
 10 Después de este tiempo, se agregó H₂O (50 ml) y etil acetato (50 ml). La capa
 acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (2 × 50 ml). Los extractos orgánicos
 combinados se lavaron con salmuera (100 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio.
 El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna eluyendo con
 un gradiente de 100% hexanos – 100% etil acetato para proporcionar un
 15 rendimiento de 56% (910 mg) de 103f.

Ejemplo 103g 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-4-fluoro-6-
 (9-oxo-4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]-dodeca-2(6),7-dien-10-il)bencil
 acetato 103g

El compuesto 103f (450 mg, 1.0 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-
 20 2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (635 mg, 2.5 mmol), acetato de potasio (393 mg, 4.0
 mmol), bis(difenilfosfino)-ferroceno]dicloropaladio(II) complejo con CH₂Cl₂ (Pd
 Cl₂dppf:CH₂Cl₂ (1:1), 66 mg, 0.08 mmol) y 1,4-dioxano (20 ml) se mezclaron y se
 calentaron a 100°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a
 temperatura ambiente y se filtró a través de un parche de Celite 521. La masa del
 25 filtro se lavó con etil acetato (2 × 25 ml), y los filtrados combinados se
 concentraron hasta secar bajo presión reducida para proporcionar 103g
 (rendimiento cuantitativo) como un aceite negro, que se utilizó directamente para
 la siguiente etapa. MS (ESI+) m/z 497.3 (M+H).

Ejemplo 103h (2S)-(2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo-
 30 [6.4.0.0^{2,6}]-dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluoro-6-[1-metil-5-({5-[2-metil-4-(oxetan-3-
 il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]fenil)-metil acetato
 103h

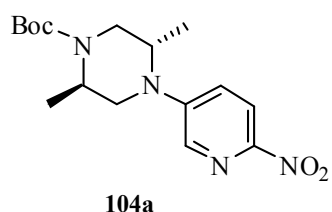


5
10 Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 101i, la reacción de (2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato (229 mg, 0.46 mmol) y (S)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazina-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona (200 mg, 0.46 mmol), proporcionó 103h como un sólido amarillo (80 mg, 24%). MS: [M+H]⁺ 724.

Ejemplo 103 (2S)-10-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-[1-metil-5-({5-[2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridina-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-fenil]-4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-9-ona 103

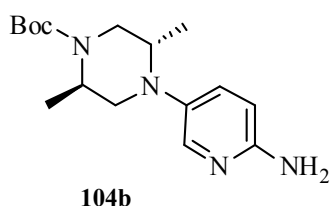
20 Siguiendo los procedimientos descritos para 101, el intermediario 103h (80 mg, 0.11 mmol) se hidrolizó con hidróxido de litio para proporcionar 103 como un sólido amarillo (40 mg, 53%). LCMS: [M+H]⁺ 682. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.56 (dd, J=2.0, 7.0, 1H), 7.95 (t, J=3.0, 1H), 7.82 (d, J=3.0, 1H), 7.47 (t, J=3.0, 1H), 7.31 (dd, J=3.0, 9.0, 1H), 7.17-7.14 (m, 1H), 6.95 (dd, J=2.5, 9.0, 1H), 6.82-6.80 (m, 2H), 4.71-4.61 (m, 4H), 4.56-4.53 (m, 1H), 4.41-4.37 (m, 1H), 4.33-4.28 (m, 1H), 4.23-4.15 (m, 3H), 3.91-3.86 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.55-3.44 (m, 2H), 3.08-3.06 (m, 2H), 2.56-2.46 (m, 7H), 2.21-2.16 (m, 1H), 1.27 (s, 6H), 0.98-0.97 (m, 3H).

Ejemplo 104a (2R,5S)-ter-butil-2,5-dimetil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 104a.



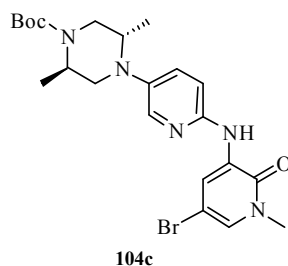
Seguendo los procedimientos descritos para el compuesto 108a, (2R,5S)-ter-butil 4-cloro-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato (1.5 g, 6.0 mmol) y 5-bromo-2-nitropiridina (1212 mg, 6.0 mol) se hicieron reaccionar para proporcionar 104a como un sólido amarillo (1500 mg, 75%). LCMS: [M+H]⁺ 337. Ver Figura 4A-4B.

Ejemplo 104b (2R,5S)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato 104b



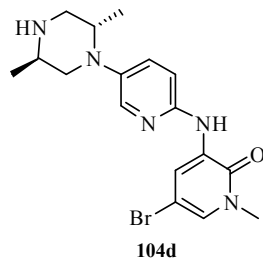
Seguendo los procedimientos descritos para el compuesto 108b, la reacción de 104a (1.5 g 4.46 mmol) proporcionó 104b como un sólido amarillo (1130 mg, 83%). LCMS: [M+H]⁺ 307.

Ejemplo 104c (2R,5S)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato 104c



Seguendo los procedimientos descritos para el compuesto 108c, la reacción de (2R,5S)-ter-butil 2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato (332 mg, 1.08 mmol) y 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (294 mg, 1.08 mmol) proporcionó 104c como un sólido amarillo (402 mg, 75%). LCMS: [M+H]⁺ 492

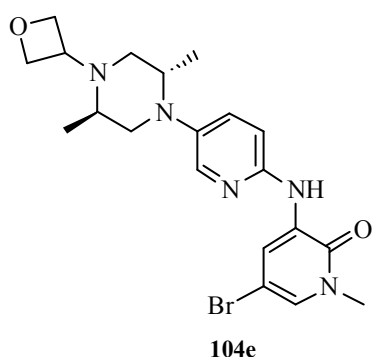
Ejemplo 104d (2R,5S)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-2,5-dimetilpiperazina-1-carboxilato 104d



Seguendo los procedimientos descritos para el compuesto 108d, la

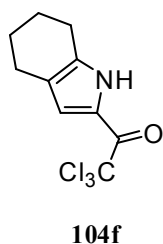
hidrolisis ácida de 104c (402 mg, 0.82 mmol) para retirar el grupo boc proporcionó 104d como un sólido amarillo (300 mg, 94%). LCMS: $[M+H]^+$ 392.

Ejemplo 104e 5-bromo-3-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 104e



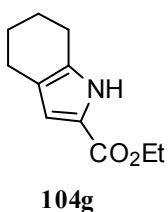
Seguendo los procedimientos descritos para el compuesto 108e y comenzando con 5-bromo-3-(5-((2S,5R)-2,5-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-piridin-2(H)-ona (300 mg, 0.77 mmol) se proporcionó 104e como un sólido amarillo (320 mg, 93%). LCMS: $[M+H]^+$ 448

Ejemplo 104f 2,2,2-tricloro-1-(4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-il)etanona 104f



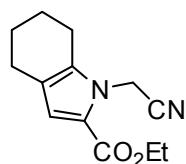
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético, un condensador y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol (3.00 g, 24.8 mmol), tricloroacetil cloruro (13.5 g, 74.4 mmol) y 1,2-dicloroetano (50 ml). La solución se agitó a 85°C durante 2 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proporcionar un rendimiento de 100% (6.50 g) de 104f como un semisólido negro: ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.94 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 2.62 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.47 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.80 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI+) m/z 266.0 ($M+H$).

Ejemplo 104g etil 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 104g



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 2,2,2-tricloro-1-(4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-il)etanona 104f (6.50 g, 24.8 mmol), etóxido de sodio (17.0 mg, 0.25 mmol) y etanol (40 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 100% (4.80 g) de etil 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 104g como un sólido café: mp 70–72 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.08 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.65 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 2.56 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 1.85 (m, 4H), 1.28 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); MS (ESI+) m/z 194.1 (M+H).

Ejemplo 104h etil 1-(cianometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 104h

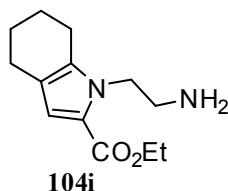


104h

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 125 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con etil 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 104g (5.76 g, 29.8 mmol) y DMF (50 ml). La solución se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo. Se agregó hidruro de sodio, NaH (60% dispersión en aceite mineral, 1.43 g, 35.8 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de ese tiempo, se agregó bromoacetoniitrilo (1.43 g, 35.8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (150 ml) y agua (450 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (3 × 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para

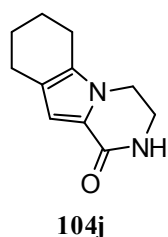
proporcionar un rendimiento de 55% (3.80 g) de 104h como un semisólido amarillo: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.66 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.62 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 2.49 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 1.92 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.33 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); MS (ESI+) m/z 233.1 (M+H).

Ejemplo 104i etil 1-(2-aminoetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 104i



Una botella de reactor Parr de 200 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 1.28 g peso en seco), 104h (3.00 g, 12.9 mmol), ácido clorhídrico al 12% (6.5 ml, 25 mmol), etil acetato (60 ml) y etanol (40 ml). La botella se unió a un hidrogenador Parr, se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno a una presión de 50 psi y se agitó durante 6 horas. Después de este tiempo, el hidrógeno se evacuó, y se cargó nitrógeno en la botella. Se agregó Celite 521 (4.0 g), y la mezcla se filtró a través de un parche de Celite 521. La masa del filtro se lavó con etanol (2×20 ml), y los filtrados combinados se concentraron hasta secar bajo presión reducida. El residuo se dividió entre etil acetato (150 ml) y carbonato de potasio acuoso al 10% (100 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (3×75 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se trituyó con etanol (5 ml) para proporcionar un rendimiento de 71% (1.71 g) de 104i como un sólido blanco: mp 102–104°C; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.61 (s, 1H), 6.22 (br, 2H), 4.15 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.59 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz), 2.42 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz), 1.70 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.23 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz); MS (APCI+) m/z 237.2 (M+H).

Ejemplo 104j 3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 104j



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 104i (1.80 g, 7.63 mmol), etóxido de sodio (1.55 g, 22.8 mmol) y etanol (50 ml). La mezcla se agitó a 55°C durante 5 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (200 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 42% (605 mg) de 104j como un sólido blanco: mp 207–209°C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.41 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 3.84 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 3.42 (m, 2H), 2.51 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.42 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.76 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); (APCI+) m/z 191.3 (M+H).

Ejemplo 104k 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído 104k

A una solución de 1,3-dibromo-5-fluoro-2-yodobenceno (50 g, 132 mmol) en tolueno anhidro (300 ml) enfriada a -35°C se agregó una solución de cloruro de isopropil magnesio (84 ml, 171 mmol, 2.0 M en Et₂O) durante 30 minutos mientras se mantuvo la temperatura interna por debajo de -25°C. Se obtuvo una solución café claro y continuó la agitación durante 1.5 horas a -25°C. Después se agregó DMF anhidro (34 ml, 436 mmol) durante un período de 30 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 10°C (temperatura ambiente) durante 1 hora y se agitó a esta temperatura durante 1.5 h (horas). Después se templó con 3.0 M de HCl y seguido por la adición de etil acetato. La capa orgánica se separó y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con éter de petróleo/etil acetato (de 50:1 a 20:1) para proporcionar 104k como un sólido blanco (20 g, 54%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 10.23 (s, 1H), 7.48 (d, J = 7.5, 2H).

Ejemplo 104l (2,6-dibromo-4-fluorofenil)metanol 104l

A una solución de 104k (20 g, 71 mmol) en EtOH (500 ml) se agregó NaBH₄ (10 g, 284 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente (10°C) durante 4 horas y la TLC mostró que el material de inicio había desaparecido. La reacción se templó mediante solución acuosa de HCl (150 ml, 1M) y se evaporó in vacuo hasta destilar la mayor parte del EtOH. El residuo se extrajo mediante etil

acetato (500 ml × 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, y se evaporaron in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con éter de petróleo/etil acetato (de 50:1 a 20:1) para proporcionar 104l como un sólido blanco (15g, 75%). MS: [M-OH]⁺ 267.

5 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.68 (d, J = 8.5, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.71 (s, 2H).

Ejemplo 104m 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 104m

A una solución de (2,6-dibromo-4-fluorofenil)metanol (104l) (20 g, 71 mmol) en CH₂Cl₂ (500 ml) a 0°C se agregó piridina (8.4 g, 107 mmol) y acetil cloruro (8.3 g, 107 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5
10 horas. La TLC mostró que el material de inicio desapareció. La reacción se evaporó in vacuo y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con éter de petróleo/etil acetato (de 50:1 a 20:1) para proporcionar 104m como un sólido blanco (20g, 87%). MS: [M-Oac]⁺ 267. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (d, J = 7.5, 2H), 5.38 (s, 2H), 2.10 (s, 3H).

15 Ejemplo 104n 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 104n

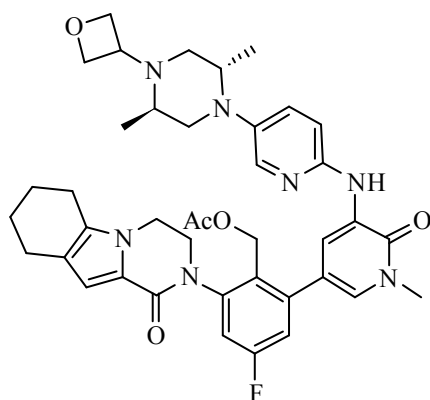
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 104j (3.8 g, 20 mmol), 104m (20 g, 60 mmol), XantPhos (1.2 g, 2 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (1.8 g, 2
20 mmol), Cs₂CO₃ (16 g, 50 mmol), y 1,4-dioxano (120 ml). El sistema se evacuó y después se llenó de nuevo con N₂. Un condensador a reflujo se unió al matraz, y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 16 horas. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna
25 instantánea eluyendo con 5:1 éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 104n como un sólido blanco (5.2 g, 60%). MS: [M+H]⁺ 435. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.70 (dd, J = 3, 1H), 7.48 (dd, J = 3, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.01 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.77 (m, 2 H), 1.68 (m, 2H).

30 Ejemplo 104o 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidro-pirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato 104o

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 104n (3.8 g, 8.65 mmol), (PinB)₂ (11 g,

43.25 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (0.4 g, 0.5 mmol), KOAc (2.5 g, 26 mmol), y 1,4-dioxano (150 ml). El sistema se evacuó y después se llenó de nuevo con N₂. Un condensador a reflujo se unió al matraz y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 15 horas. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna instantánea eluyendo con 5:1 éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 104o como un sólido amarillo (3.2 g, 77%). MS: [M+H]⁺ 483.

Ejemplo 104p 2-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 104p



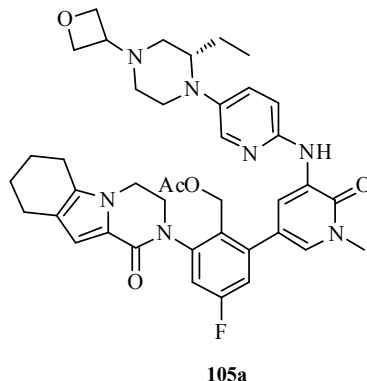
104p

Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108f, la reacción de 104e (268 mg, 0.60 mmol) y 104o (289 mg, 0.60 mmol) proporcionó 104p como un sólido amarillo (300 mg, 85%). LCMS: [M+H]⁺ 724.

Ejemplo 104 2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 104

Siguiendo los procedimientos en el ejemplo 101i, la hidrólisis del éster de acetato de 104p (288 mg, 0.40 mmol) con hidróxido de litio proporcionó 104 como un sólido blanco (80 mg, 25%). LCMS: [M+H]⁺ 682. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.60 (d, J=2.0, 1H), 8.02 (d, J=2.5, 1H), 7.87 (d, J=1.5, 1H), 7.49-7.48 (m, 1H), 7.37 (d, J=9.0, 1H), 7.16 (d, J=9.0, 1H), 6.96 (d, J=8.5, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.81 (d, J=9.0, 1H), 4.77-4.61 (m, 4H), 4.54 (d, J=11.5, 1H), 4.39-4.31 (m, 2H), 4.19-4.15 (m, 3H), 3.92-3.91 (m, 1H), 3.77-3.74 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.18 (s, 1H), 2.92-2.89 (m, 1H), 2.73-2.70 (m, 2H), 2.61-2.56 (m, 4H), 2.48 (s, 1H), 1.98-1.79 (m, 5H), 0.91-0.89 (m, 6H).

Ejemplo 105a (S)-2-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 105a



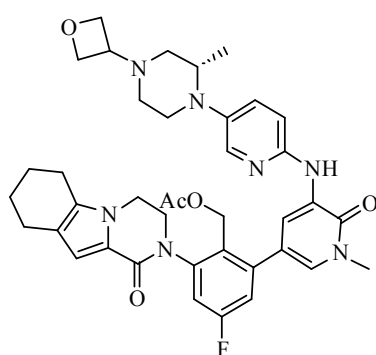
Un tubo sellado equipado con un agitador magnético se cargó con (S)-5-bromo-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona (203 mg, 0.45 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (216 mg, 0.45 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (18 mg, 0.0225 mmol), NaOAc (74 mg, 0.90 mmol), K₃PO₄ (191 mg, 0.90 mmol), y acetonitrilo (3 ml). Ver figura 5. Después de tres ciclos de lavado con vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 1 hora. Después se filtró y el filtrado se evaporó in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con diclorometano/metanol (25:1, V/V) para proporcionar 105a (220 mg, 87%) como un sólido café. LCMS: [M+H]⁺ 724.

Ejemplo 105 (S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 105

Una mezcla de 105a (220 mg, 0.30 mmol) y LiOH (72 mg, 3.0 mmol) en iPrOH/THF (1:1, 4 ml) y H₂O (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó in vacuo y el residuo se extrajo con EtOAc (10 ml X 2). El extracto de EtOAc combinado se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 105 (54 mg, 25%) como un sólido blanco. LCMS: [M+H]⁺ 682. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (t, J=2.5, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.47 (d, J=1.5, 1H), 7.26-7.24 (m, 1H), 7.18-7.15 (m, 1H), 6.95 (dd, J=2.5, 9.0, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.81 (d, J=7.5, 1H), 4.72-4.61 (m, 4H), 4.54 (d, J=11.5, 1H), 4.33-4.30 (m, 2H), 4.20-4.14 (m, 3H), 3.92-3.90 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.53 (t, J=5.5, 1H), 3.31 (s, 1H), 3.12 (s, 2H), 2.61-

2.56 (m, 5H), 2.44 (s, 2H), 2.35 (s, 1H), 1.91-1.89 (m, 2H), 1.80-1.79 (m, 2H), 1.67 (s, 1H), 1.43-1.37 (m, 1H), 0.82 (t, J=5.5, 3H)

Ejemplo 106a (S)-4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 106a



106a

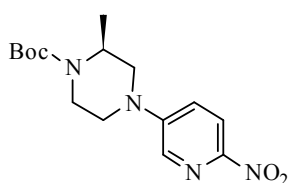
Un tubo sellado se cargó con la mezcla de 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (337 mg, 0.7 mmol), (S)-5-bromo-1-metil-3-(3-metil-5-(4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona (303 mg, 0.7 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (33 mg, 0.04 mmol), K₃PO₄·3H₂O (372 mg, 1.4 mmol), y NaOAc (115 mg, 1.4 mmol) en CH₃CN (20 ml). Ver figura 6. El sistema se evacuó y se volvió a llenar con N₂. La mezcla de reacción se calentó a 110°C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna instantánea eluyendo con 30:1 de DCM/MeOH para proporcionar 106a como un sólido amarillo (258 mg, 52%). LCMS: [M+H]⁺ 710.

Ejemplo 106 (S)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 106

A temperatura ambiente, a una solución de 106a (153 mg 0.22 mmol) en THF/iPA/H₂O (6 ml/6 ml/2 ml) se agregó LiOH (70 mg, 2.9 mmol) mientras se agitaba. Esta mezcla se agitó durante 0.5 horas. Después, se agregó H₂O (20 ml) y la mezcla se extrajo con EA (30 ml X 3). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar un sólido amarillo, que se purificó

adicionalmente mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 106 como un sólido blanco (60 mg, 42% rendimiento). LCMS: $[M+H]^+$ 668. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (dd, $J=2.0, 7.0$, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.48 (t, $J=2.5$, 1H), 7.33 (d, $J=7.0$, 1H), 7.16 (d, $J=8.0$, 1H), 6.96 (dd, $J=2.5, 9.0$, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.83 (d, $J=9.0$, 1H), 4.69-4.72 (m, 4H), 4.55 (d, $J=11.5$, 1H), 4.29-4.38 (m, 2H), 4.14-4.20 (m, 3H), 3.90-3.93 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.57 (s, 1H), 3.48 (s, 1H), 3.09-3.14 (m, 2H), 2.52-2.61 (m, 7H), 2.23 (s, 1H), 1.88-1.91 (m, 2H), 1.79-1.81 (m, 2H), 0.99 (d, $J=5.0$, 3H).

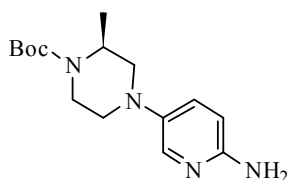
Ejemplo 107a (S)-ter-butil 2-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 107a



107a

Si siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108a, la reacción de 5-bromo-2-nitropiridina (1.5 g) y (S)-ter-butil 2-metilpiperazina-1-carboxilato (2.3 g), proporcionó 107a como un sólido amarillo (1.5 g, 40%). MS: $[M+H]^+$ 323. Ver figura 7.

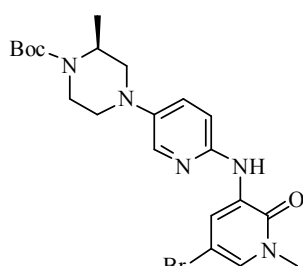
Ejemplo 107b (S)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-2-metil-piperazina-1-carboxilato 107b



107b

Si siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108b, la reducción de 107a (4.0 g) proporcionó 107b como un sólido amarillo (1.23 g, 97%). MS: $[M+H]^+$ 293.

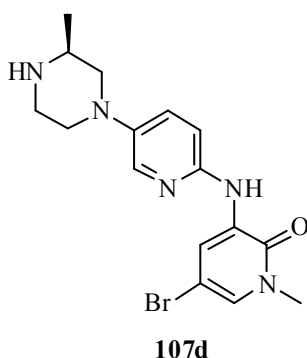
Ejemplo 107c (S)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-2-metilpiperazina-1-carboxilato 107c



107c

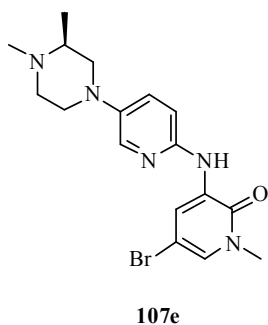
Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108c, la reacción de 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (83 mg) y 107b (90 mg), proporcionó 107c como un sólido amarillo (120 mg, 81%). MS: [M+H]⁺ 480.

Ejemplo 107d (S)-5-bromo-1-metil-3-(5-(3-metilpiperazin-1-il)-piridin-2-il-amino)piridin-2(1H)-ona 107d



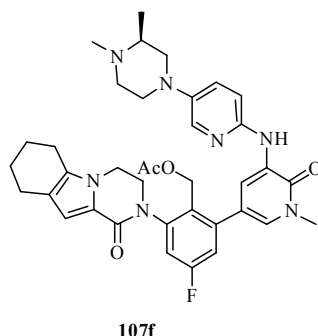
Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108d, la hidrólisis ácida del grupo boc de 107c (120 mg) proporcionó 107d como un sólido amarillo (100 mg, 90%). MS: [M+H]⁺ 380.

Ejemplo 107e (S)-5-bromo-3-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 107e



Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108e, la metilación de 107d (100 mg) proporcionó 107e como un sólido amarillo (60 mg, 59%). MS: [M+H]⁺ 394.

Ejemplo 107f (S)-2-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino-[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 107f



5

Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108f, la reacción de 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (74 mg) y 107e (60 mg) proporcionó 107f como un sólido amarillo (60 mg, 59%). LCMS: [M+H]⁺ 668.

10

Ejemplo 107 (S)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 107

15

Siguiendo los procedimientos en el ejemplo 108, la hidrolisis de 107f (60 mg) con hidróxido de litio proporcionó 107 como un sólido blanco (20 mg, 36%). LCMS: [M+H]⁺ 626. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.55 (s, 1H), 7.90 (d, J=2.5, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.46 (d, J=2.5, 1H), 7.26 (dd, J=3.0, 9.5, 1H), 7.17 (dd, J=3.0, 9.5, 1H), 6.95 (dd, J=3.0, 9.0, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.81 (d, J=9.0, 1H), 4.55 (d, J=10.5, 1H), 4.31-4.36 (m, 2H), 4.14-4.20 (m, 3H), 3.90-3.92 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.38 (d, J=11, 1H), 3.32 (d, J=11.5, 1H), 2.94 (s, 2H), 2.56-2.61 (m, 5H), 2.49 (s, 1H), 2.38 (s, 4H), 1.89-1.91 (m, 2H), 1.79-1.80 (m, 2H), 1.17 (d, J=5.0, 3H).

20

Ejemplo 108a (R)-ter-butil 2-metil-4-(6-nitropiridin-3-il) piperazina-1-carboxilato 108a

25

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con metilsulfinilmetano (50 ml), 5-bromo-2-nitropiridina (2.2 g, 11 mmol), (R)-ter-butil 2-metilpiperazina-1-carboxilato (2.2 g, 11 mmol), y carbonato de potasio (3.08 g, 22 mmol). Ver figura 8. El sistema se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/nitrógeno y se calentó a 65°C durante 15 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente, y se dividió entre etil acetato (100 ml) y agua (20 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (50 ml × 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo

30

presión reducida. El residuo se purificó en cromatografía de columna instantánea eluyendo con 2:1 (V/V) petróleo/etil acetato para proporcionar 108a como un sólido amarillo (1.75 g, 50%). LCMS: [M+H]⁺ 323.

Ejemplo 108b (R)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-2-metilpiperazina-1-carboxilato 108b

A una mezcla de 108a (1.0 g, 3.1 mmol) en metanol (15 ml) se agregó carbono paladio al 10% (100 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo la atmosfera de hidrógeno durante la noche. Al final de la reacción, ésta se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con DCM/MeOH (10:1, V/V) para proporcionar 108b como un sólido café (800 mg, 88%). LCMS: [M+H]⁺ 293.

Ejemplo 108c (R)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridina-3-il)-2-metilpiperazina-1-carboxilato 108c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 50 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (15 ml), 108b (800 mg, 2.7 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (720 mg, 2.7 mmol), y carbonato de cesio (1.76 g, 5.4 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la suspensión durante 3 minutos, se agregó Xantphos (78 mg, 0.14 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (128 mg, 0.14 mmol). El sistema se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a reflujo durante 3 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (30 ml) y agua (30 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (50 ml × 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó en cromatografía de columna instantánea eluyendo con 10:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 108c como un sólido amarillo (624 mg, 47%). LCMS: [M+H]⁺ 480.

Ejemplo 108d (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(3-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridina-2(1H)-ona 108d

A una mezcla de 108c (624 mg, 1.3 mmol) en diclorometano (8 ml) se agregó ácido trifluoroacético por goteo (300 mg, 2.6 mmol) a temperatura

ambiente. Después la mezcla se agitó durante la noche. Se agregaron 2.0 N de NaOH para ajustar el pH a más de 10. Después la mezcla se extrajo con etil acetato (50 ml × 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 108d como un sólido café (300 mg, 61%). LCMS: [M+H]⁺ 380.

Ejemplo 108e (R)-5-bromo-3-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil piridin-2(1H)-ona 108e

A una solución de 108d (300 mg, 0.8 mmol) en metanol (8 ml) se agregaron dos gotas de ácido acético, solución de formaldehído al 30% (0.5 ml), y triacetoxiborohidruro de sodio (354 mg, 1.6 mmol) a temperatura ambiente. Después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Al final de la reacción, se agregó agua (10 ml) y la mezcla se extrajo con etil acetato (20 ml × 2). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 108e como un sólido café (280 mg, 90%). LCMS: [M+H]⁺ 392.

Ejemplo 108f (R)-2-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 108f

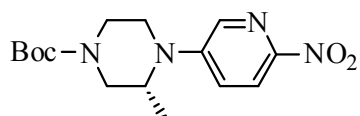
Un tubo sellado equipado con un agitador magnético se cargó con 108e (280 mg, 0.71 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (344 mg, 0.71 mmol), PdCl₂(dppf) (58 mg, 0.071 mmol), 1.0 M de NaOAc (2.0 equivalentes), 1.0 M de K₃PO₄ (2.0 equivalentes), y dioxano (5 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 110°C durante 2 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con diclorometano/metanol (10:1, V/V) para proporcionar 108f (250 mg, 58%) como un sólido blanco. LCMS: [M+H]⁺ 668.

Ejemplo 108 (R)-2-(3-(5-(5-(3,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)-fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 108

Una mezcla de 108f (250 mg, 0.375 mmol) y LiOH.H₂O (98 mg, 2.0 mmol) en iPrOH/THF (1:1, 3 ml) y H₂O (1 ml) se agitó a 30°C durante 2 horas. La

mezcla se evaporó in vacuo y el residuo se extrajo con EtOAc (10 ml X 2). El extracto de EtOAc combinado se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó con HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 108 (62 mg, 26%) como un sólido blanco. LCMS: $[M+H]^+$ 626. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.53 (s, 1H), 7.89 (d, $J=2.5$, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.45 (d, $J=2$, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.14-7.16 (m, 1H), 6.92-6.94 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.79 (d, $J=9$, 1H), 4.52-4.54 (m, 1H), 4.30-4.32 (m, 2H), 4.14-1.16 (m, 3H), 3.90-3.91 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.34-3.35 (m, 2H), 2.91-2.92 (m, 2H), 2.60-2.38 (m, 10H), 1.83-1.85 (m, 2H), 1.78-1.79 (m, 2H), 1.17 (s, 3H)

Ejemplo 109a (R)-ter-butil 3-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 109a

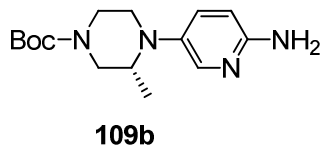


109a

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (60 ml), 5-bromo-2-nitropiridina (2.0 g, 10.0 mmol), (R)-ter-butil 3-metilpiperazina-1-carboxilato (2.0 g, 10.0 mmol), y carbonato de cesio (6.5 g, 20 mmol). Ver figura 9. Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 30 minutos, se agregó XantPhos (579 mg, 1.0 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (915 mg, 1.0 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 15 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (150 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó en columna instantánea eluyendo con 30:1 de DCM/MeOH para proporcionar 109a (1.6 g, 44%) como un sólido amarillo. MS: $[M+H]^+$ 323. ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.21 (d, $J=3.5$, 1H), 8.18 (d, $J=9.0$, 1H), 7.43-7.45 (m, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.92-3.99 (m, 1H), 3.80 (d, $J=12.5$, 2H), 3.06-3.23 (m, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.09 (d, $J=6.5$, 3H).

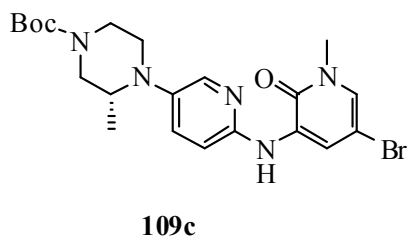
Ejemplo 109b (R)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-3-metilpiperazina-1-

carboxilato 109b



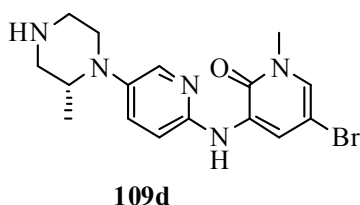
Un matraz de 500 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con 109a (1.5 g, 4.6 mmol), 10% paladio sobre carbono (50% en húmedo, 200 mg), y metanol (70 ml). Éste se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno, y se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. Después se evacuó el hidrógeno y se cargó nitrógeno en el matraz. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un parche de celita y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 109b (1.1 g, 81%) como un sólido café. MS: [M+H]⁺ 293.

Ejemplo 109c (R)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-3-metilpiperazina-1-carboxilato 109c



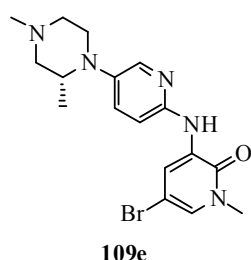
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (50 ml), 109b (1.0 g, 3.4 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (2.7 g, 10.2 mmol), y carbonato de cesio (2.2 g, 6.8 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 30 minutos, se agregó XantPhos (198 mg, 0.34 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)-dipaladio(0) (313 mg, 0.34 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 5 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (100 ml × 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó en columna instantánea eluyendo con 30:1 de DCM/MeOH para proporcionar 109c como un sólido amarillo (1.1 g, 63%). MS: [M+H]⁺ 478.

Ejemplo 109d (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 109d



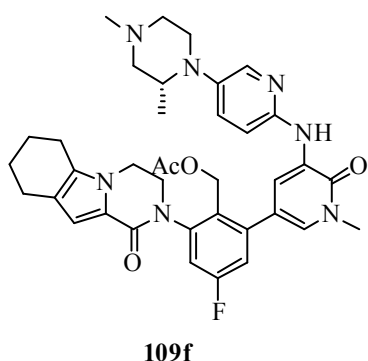
A una mezcla de 109c (600 mg, 1.26 mmol) en metanol (20 ml) se agregó HCl/dioxano (4.0 M, 4 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se concentró a presión reducida. El residuo se basificó con 1.0 M de NaOH acuoso y se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se lavó con H₂O y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 109d (450 mg, 95%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 378.

Ejemplo 109e (R)-5-bromo-3-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 109e



Una mezcla de 109d (500 mg, 1.3 mmol), y formaldehído al 30% (6.5 mmol) en metanol/HOAc (30 ml/3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos, seguido por la adición de NaBH₃CN (120 mg, 1.9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y se agregó H₂O (20 ml). La mezcla se extrajo con DCM (50 ml) tres veces. La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna eluyendo con 30:1 de DCM/metanol para proporcionar 109e como un sólido amarillo (473 mg, 83%). MS: [M+H]⁺ 392.

Ejemplo 109f (R)-2-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 109f



Una mezcla de 109e (400 mg, 1.0 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (490 mg, 1.0 mmol), PdCl₂(dppf) (80 mg, 0.1 mmol), 2.0 M de Na₂CO₃ (2.0 equivalentes) en DMF (4 ml) se calentó a 100°C durante 2 horas. Se agregó salmuera y la mezcla se extrajo con EA (50 ml) tres veces. La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna instantánea eluyendo con 30:1 de DCM/MeOH para proporcionar 109f como un sólido café (354 mg, 52%). LCMS: [M+H]⁺ 668

Ejemplo 109 (R)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 109

Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 108, la hidrólisis de 109f (337 mg, 0.5 mmol) con hidróxido de litio proporcionó 109 como un sólido amarillo (152 mg, 48%). LCMS: (M+H)⁺ 626. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.57 (t, J=2.5, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.83 (d, J=3.0, 1H), 7.31-7.36 (m, 3H), 7.23 (d, J=9.0, 1H), 7.17-7.20 (m, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.86-4.88 (m, 1H), 4.32 (d, J=4.5, 2H), 4.09-4.20 (m, 3H), 3.87-3.91 (m, 1H), 3.66 (s, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.04-3.08 (m, 1H), 2.90-2.94 (m, 1H), 2.57-2.65 (m, 3H), 2.47 (t, J=5.5, 2H), 2.35-2.42 (m, 2H), 2.19-2.21 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 1.79 (t, J=6.0, 2H), 1.66-1.69 (m, 2H), 0.91 (d, J=6.0, 3H).

Ejemplo 110a (S)-5-bromo-3-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 110a

Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 109e, (S)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona (377 mg, 1 mmol) se metiló mediante formilación reductiva para proporcionar 110a como un sólido blanco (294 mg, 75%). LCMS: [M+H]⁺ 393. Ver figura 10.

Ejemplo 110b (S)-2-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 110b

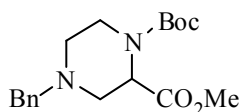
Siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 109f, 110a

(391 mg, 1 mmol) y 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (482 mg, 1 mmol) se acoplaron mediante reacción Suzuki para proporcionar 110b como un sólido blanco (334 mg, 50%). LCMS: [M+H]⁺ 668.

5 Ejemplo 110 (S)-2-(3-(5-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 110

Siguiendo los procedimientos en el Ejemplo 109, la hidrólisis del éster de acetato de 110b (667 mg, 1.0 mmol), proporcionó 110 como un sólido
10 blanco (75 mg, 12%). LCMS: [M+H]⁺ 626. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.57 (d, J=8, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.47 (d, J=1.5, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.15-7.16 (m, 1H), 6.94-6.96 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.80 (d, J=8.5, 1H), 4.52-4.54 (m, 1H), 4.31-4.33 (m, 2H), 4.18-4.19 (m, 3H), 3.90-3.91 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.49-3.50 (m, 1H), 3.06-3.07 (m, 2H), 2.58-2.60 (m, 7H), 2.34 (s, 3H), 1.88-1.89 (m, 2H), 1.78-1.79
15 (m, 2H), 0.96 (s, 3H).

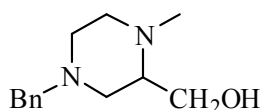
Ejemplo 111a 1-ter-butil 2-metil 4-bencilpiperazina-1,2-dicarboxilato 111a



20 **111a**

A un matraz de fondo redondo de un cuello de 100 ml seco equipado con una barra de agitación se agregó 1-ter-butil 2-metil piperazina-1,2-dicarboxilato (5 g, 20.5 mmol) bajo N₂ (Figure 1). Se agregó acetonitrilo anhidro (60 ml) seguido por la adición de BnBr (2.7 ml, 22.5 mmol) y trietilamina (8.5 ml,
25 61.5 mmol). Un condensador se colocó entonces en el matraz y la mezcla de reacción se calentó a 71°C durante 45 minutos. La mezcla de reacción se dejó llegar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. Después se diluyó con diclorometano y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El compuesto
30 crudo se purificó con columna instantánea (PE: EA = 8 : 1) para producir 4.5 g (66%) of 111a. MS: [M+H]⁺: 335.

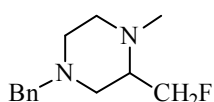
Ejemplo 111b (4-bencil-1-metilpiperazin-2-il)metanol 111b



111b

El compuesto 111a (1 g, 2.99 mmol) se disolvió en 100 ml de tetrahidrofurano anhidro y se agregó cuidadosamente aluminio hidruro de litio (342 mg, 8.98 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Después, se sometió a reflujo durante 3 horas y la mezcla de reacción se vació sobre hielo en porciones. Después se filtró y el filtrado se evaporó in vacuo. Después de la adición de 100 ml de salmuera, se extrajo con diclorometano (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 111b como un aceite amarillo (0.6 g, rendimiento 91%).

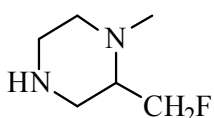
Ejemplo 111c 4-bencil-2-(fluorometil)-1-metilpiperazina 111c



111c

A una solución enfriada en hielo de trifluoruro de N,N'-dimetilaminosulfuro (10.8 ml, 81.8 mmol) en cloruro de metileno bajo N₂ se agregó 111b (9 g, 40.9 mmol) en cloruro de metileno por goteo. La solución amarilla se agitó a 0°C durante 1 hora y se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. La reacción se diluyó con NaHCO₃, y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice (DCM:MeOH = 50 : 1) para proporcionar 111c como un aceite amarillo (3 g, rendimiento 33%). MS: [M+H]⁺: 223.

Ejemplo 111d 2-(fluorometil)-1-metilpiperazina 111d



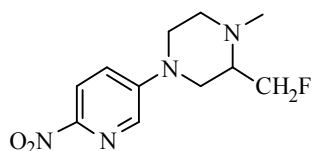
111d

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 111c (3 g, 13.5 mmol) y MeOH (80 ml), y se agregó la mezcla resultante Pd/C (10%) (300 mg). La mezcla de reacción se agitó bajo gas de hidrógeno (H₂) durante 15 horas. Después la reacción finalizó, se filtró y se concentró para proporcionar 111d como un aceite amarillo (1.6 g,

rendimiento 90%).

Ejemplo 111e 2-(fluorometil)-1-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina

111e

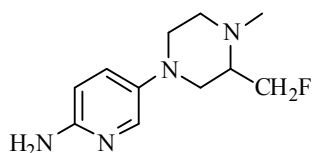


111e

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 111d (1.6 g, 12.1 mmol), 5-bromo-2-nitropiridina (3.7 g, 18.2 mmol) y carbonato de cesio (9.9 g, 30.2 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la solución resultante durante 30 minutos, se agregó Xantphos (700 mg, 0.12 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (550 mg, 0.06 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 15 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido negro como el producto crudo. Después se purificó sobre gel de sílice (DCM : MeOH = 100 : 1) para proporcionar 111e como un sólido amarillo (2.6 g, rendimiento 76%). ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 8.20 (dd, J = 12.5 Hz, 2H), 7.51 (dd, J = 9.0 Hz, 1H), 4.74-4.54 (m, 2H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 3.09-2.99 (m, 2H), 2.50 (m, 2H), 2.46 (s, 3H).

Ejemplo 111f 5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-amina

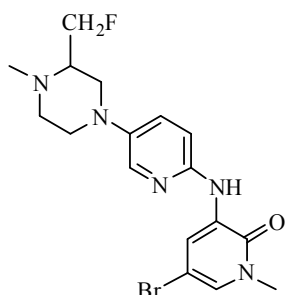
111f



111f

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 111e (2.6 g, 10.2 mmol) y MeOH (50 ml), y se agregó la mezcla resultante Pd/C (10%) (260 mg). La mezcla de reacción se agitó bajo H₂ durante 15 horas. Después la reacción finalizó, se filtró y se concentró para proporcionar 111f, que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

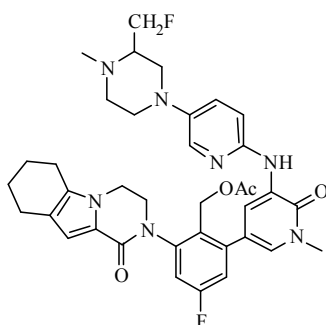
Ejemplo 111g 5-bromo-3-(5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 111g



111g

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (60 ml), 111e (crudo, 14.1 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (4.5 g, 16.9 mmol) y carbonato de cesio (11.5 g, 35.2 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la solución resultante durante 30 minutos, se agregó Xantphos (820 mg, 1.41 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (645 mg, 0.7 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 15 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido negro como el producto crudo. Después se purificó sobre gel de sílice (DCM : MeOH = de 100 : 1 a 50 : 1) para proporcionar 111g como un sólido amarillo (3.1 g, rendimiento 50%).

Ejemplo 111h 4-fluoro-2-(5-(5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 111h



111h

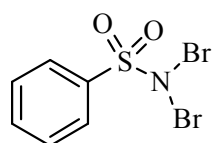
Una mezcla de 111g (1 g, 2.4 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato (1.3 g, 2.68 mmol), PdCl₂(dppf) (190 mg, 0.24 mmol), K₃PO₄ (1 g, 4.8 mmol), y NaOAc (390 mg, 4.8 mmol) en MeCN (15 ml) y H₂O (1.5 ml) se

calentó a 110°C durante 3 horas. El solvente se evaporó in vacuo. El residuo se purificó sobre una columna de gel de sílice (DCM: MeOH = 50:1) para proporcionar 111h (0.8 g, rendimiento 45%).

Ejemplo 111 2-(5-fluoro-3-(5-(5-(3-(fluorometil)-4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 111

Una mezcla de 111h (750 mg, 1.09 mmol) e hidrato de LiOH (2.3 g, 55 mmol) en iPrOH (10 ml), THF (10 ml) y H₂O (10 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó in vacuo, y el residuo se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Los extractos combinados se concentraron bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre una columna de gel de sílice (DCM: MeOH= 50:1) para proporcionar 111 como un sólido amarillo (700 mg, 93%). MS: [M+H]⁺644. ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 8.54 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.33 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.67-4.46 (m, 4H), 4.19(s, 3H), 4.02 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.51 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.42 (d, J = 11. Hz, 1H), 3.36 (s, 1H), 2.96 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 2.85 (m, 1H), 2.73-2.50 (m, 7H), 2.48(s, 3H), 1.88 (m, 2H), 1.78 (m, 2H).

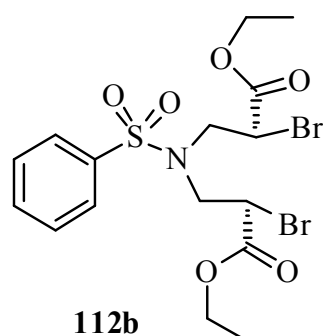
Ejemplo 112a N,N-dibromobenzenosulfonamida 112a



112a

Bencenosulfonamida (115 g, 731.4 mmol), KOH (82.8 g, 1.48 mol) y agua (500 ml) se colocaron en un matraz de tres cuellos de 1000 ml (Figura 12). Después se agregó bromo (230 g, 1.48 mol) por goteo con agitación vigorosa. El precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se filtró para proporcionar 112a como un polvo amarillo (207g, 90%)

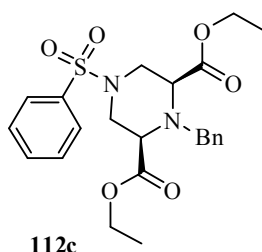
Ejemplo 112b (S)-etil 2-bromo-3-(N-((R)-2-bromo-3-etoxi-3-oxopropil)fenil-sulfonamido)propanoato 112b



112b

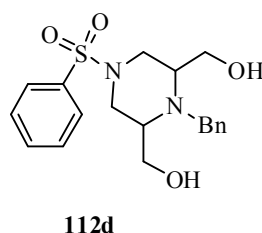
A una solución de 112a (207 g, 658.26 mmol) en DCM (500 ml) se
 5 agregó etil acrilato (331.2 g, 3.29 mol). La mezcla se agitó a reflujo y la lámpara
 de arco de mercurio se abrió para asegurar que la reacción tuviera lugar en la luz
 del arco de mercurio durante 4 horas. Después la mezcla de reacción se purificó a
 través de una columna de gel de sílice eluyendo con PE:EA= de 15:1 a 10:1 para
 proporcionar 112b como un sólido blanco (20g , 6%). MS: [M+H]⁺: 538.

10 Ejemplo 112c (2R,6S)-dietil 1-bencil-4-(fenilsulfonil)piperazina-2,6-
 dicarboxilato 112c.



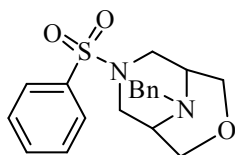
A una solución de 112b (20 g, 38.8 mmol) en tolueno (100 ml) se
 agregó BnNH₂ (12.48 g, 116.5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 90°C
 durante 3 horas. Después la mezcla se purificó a través de una columna de gel de
 sílice eluyendo con PE:EA = de 50:1 a 10:1 para proporcionar 112c como un
 20 cristal blanco (10.7 g, 60%) MS: [M+H]⁺: 461.

Ejemplo 112d (1-bencil-4-(fenilsulfonil)piperazina-2,6-diil)dimetanol
 112d



Se agregó 1 M de solución de LiAlH₄ en THF (70 ml; 70 mmol) por
 goteo bajo enfriamiento y agitación para 112c (10.7 g; 23.2 mmol) en THF (275
 ml). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 20 minutos, se vació en
 30 una solución saturada de Na₂CO₃ y se extrajo con TBME tres veces. Las fases
 orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron hasta secar para
 proporcionar un sólido incoloro, que se lavó con TBME para proporcionar 112d
 como cristales blancos (7 g, 80%). MS: [M+H]⁺: 377.

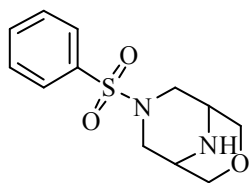
Ejemplo 112e 9-bencil-3-(fenilsulfonil)-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonano 112e



112e

Se agregó SOCl_2 (1.34 ml; 18.5 mmol) en tolueno (14 ml) bajo agitación a temperatura ambiente rápidamente por goteo a una solución de 112e (7.0 g, 18.57 mmol) en DMF (276 ml). La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite (170°C) bajo reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se evaporó, absorbiendo en una solución saturada de Na_2CO_3 y se extrajo con EtOAc tres veces. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se evaporaron hasta secar y se purificaron a través de una columna de gel de sílice eluyendo con PE: EA = de 10:1 a 5:1 para proporcionar 112e como un cristal incoloro (3.0 g, 45%) MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 413.

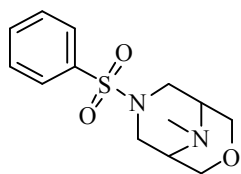
Ejemplo 112f 3-(fenilsulfonil)-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonano 112f



112f

A una solución de 112e (3.0 g, 8.37 mmol) en EtOH (100 ml) se agregó Pd/C (0.5 g) en MeOH (30 ml). La mezcla de reacción se hidrogenó en hidrógeno atmosférico a 50°C durante la noche. Después, el catalizador se filtró, se lavó con etanol, y el solvente se evaporó para proporcionar 112f como un sólido incoloro (2.0 g, 90%) MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 268.

Ejemplo 112g 9-metil-3-(fenilsulfonil)-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonano 112g

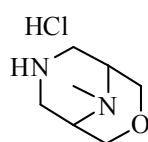


112g

A una solución de 112f (2.0 g, 7.5 mmol) en MeCN (60 ml) se agregó

HCHO (1.4 ml, 16 mmol) y 5 gotas de AcOH a temperatura ambiente. Después se agregó NaCNBH₃ (1 g, 16 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 horas. Ésta se vació en agua y se extrajo con EA (100*3). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se evaporó, y se purificó a través de una columna de gel de sílice eluyendo con PE:EA = de 5:1 a 1:1 para proporcionar 112g como un aceite incoloro (1.5 g, 72%) MS: [M+H]⁺: 283.

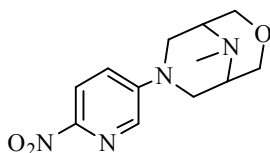
Ejemplo 112h hidrocloreuro de 9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonano 112h



112h

A una solución de 112g (1.5 g, 5.3 mmol) en una mezcla de tolueno (15 ml) y THF (15 ml) se agregó LiAlH₄ (0.42 g, 10.8 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 110°C durante la noche. Después se vació en HCl (2 mol/l). La capa orgánica se dividió y la capa acuosa se evaporó hasta secar y se disolvió en metanol. La suspensión resultante se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar 112h (800 mg, 43%) como un aceite incoloro. MS: [M+H]⁺: 143.

Ejemplo 112i 9-metil-3-(6-nitropiridin-3-il)-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonano 112i

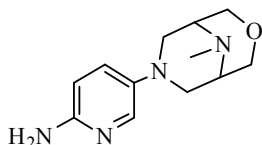


112i

A una solución de 112h (800 mg, 5.6 mmol) y 5-bromo-2-nitropiridina (1.37 g, 6.86 mmol) en DMSO (50 ml) se agregó Cs₂CO₃ (5 g) y t-BuNH₄I (cat.). La mezcla de reacción se agitó a 120°C durante la noche. Después se enfrió a temperatura ambiente, y se extrajo con EtOAc (300 ml). La capa orgánica se lavó con agua (3 x 100 ml) y salmuera (150 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el producto crudo, que se purificó a través de una columna de gel de sílice eluyendo con DCM: MeOH = de 100:1 a 50:1 para proporcionar

112i como un sólido amarillo (850 mg, 72%) MS: [M+H]⁺: 265.

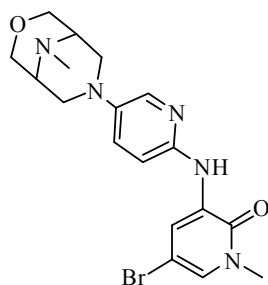
Ejemplo 112j 5-(9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-amina 112j



112j

A una solución de 112i (800 mg, 3.0 mmol) en THF (80 ml) se agregó Pd/C (50 mg) en MeOH (20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se hidrogenó en hidrógeno a presión atmosférica y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar 112j como un aceite incoloro (680 mg, 90%). MS: [M+H]⁺: 235.

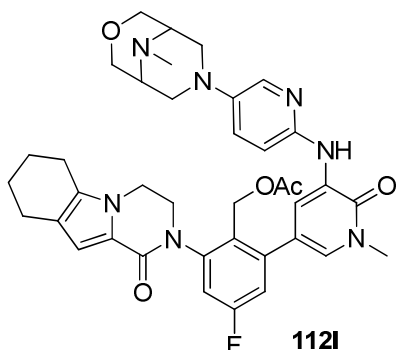
Ejemplo 112k 5-bromo-1-metil-3-(5-(9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 112k



112k

A una solución de 112j (500 mg, 2.1 mmol) y 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (852 mg, 3.2 mmol) en dioxano (100 ml) se agregó Xantphos (58 mg, 0.1 mmol), Cs₂CO₃ (2.1 g, 6.4 mmol) y Pd₂(dba)₃ (110 mg, 0.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 105°C durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se concentró, y el producto crudo se purificó a través de una columna de gel de sílice eluyendo con MeOH:DCM = de 0 a 1:5 para 112k (500 mg, 46.4%). MS: [M+H]⁺: 421.

Ejemplo 112l 4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(9-metil-7-oxa-3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 112l



112l

Una mezcla de 112I (500 mg, 1.2 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-
 5 3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-
 dioxaborolan-2-il)bencil acetato (636 mg, 1.32 mmol), PdCl₂(dppf) (95 mg, 0.12
 mmol), K₃PO₄ (500 mg, 2.4 mmol), y NaOAc (195 mg, 2.4 mmol) en MeCN (8 ml) y
 H₂O (0.8 ml) se calentó a 110°C durante 3 horas. El solvente se evaporó in vacuo.
 El residuo se purificó en columna de gel de sílice eluyendo con DCM: MeOH= 50:1
 10 para proporcionar 112I (340 mg, rendimiento 41%). MS: [M+H]⁺: 696.

Ejemplo 112 2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(9-metil-7-oxa-
 3,9-diaza-biciclo[3.3.1]nonan-3-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-
 il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 112

Una mezcla de 112I (340 mg, 0.489 mmol) e hidrato de LiOH (445
 15 mg, 24.45 mmol) en i-PrOH (4ml), THF (4ml) y H₂O (4 ml) se agitó a 300C durante
 1 hora. La mezcla se evaporó in vacuo, y el residuo se purificó en HPLC de
 preparación para proporcionar 112 como un sólido amarillo claro (105 mg,
 32.85%). MS: [M+H]⁺+654. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.46 (d, J = 2.5 Hz, 1H),
 7.87 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.42 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.23-7.14 (m, 2H),
 20 6.94 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.84 (m, 2H), 4.52 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 4.31 (m, 2H), 4.12
 (m, 5H), 3.89 (m, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.43 (m, 4H), 2.84 (s, 2H), 5.62-2.54 (m, 7H),
 1.88 (m, 2H), 1.78 (m, 2H).

Ejemplo 113a (3S)-ter-butil 3-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-
 carboxilato 113a

25 Los procedimientos descritos en el ejemplo 104 y comenzando con
 (3S)-ter-butil 3-metilpiperazina-1-carboxilato (10.0 g, 50 mmol) y 5-bromo-2-
 nitropiridina (10.5 g, 50 mmol) proporcionaron 113a como un sólido amarillo (8.05
 g, 50%). Ver figura 13. MS-ESI: [M+H]⁺ 323.

Ejemplo 113b (3S)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-3-metilpiperazina-1-
 30 carboxilato 113b

Los procedimientos descritos en el ejemplo 104 y comenzando con
 113a (5.8 g, 18 mmol) proporcionaron 113b como un sólido café (4.9 g, 93%). Ver
 figura 13. MS-ESI: [M+H]⁺ 293.

Ejemplo 113c (3S)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridina-3-il)-3-metilpiperazina-1-carboxilato 113c

Los procedimientos descritos en el ejemplo 104 y comenzando con 113b (4.0 g, 13.7 mmol) y 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (5.5 g, 20.6 mmol) proporcionaron 113c como un sólido amarillo (5.4 g, 83%). Ver figura 13. MS-ESI: [M+H]⁺ 478.

Ejemplo 113d (3S)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridina-2(1H)-ona 113d

Los procedimientos descritos en el ejemplo 104 y comenzando con 113c (3.1 g, 6.5 mmol) proporcionaron 113d como un sólido amarillo (2.3 g, 94%). Ver figura 13. MS-ESI: [M+H]⁺ 378.

Ejemplo 113e (S)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 113e

Una mezcla de 113d (40.0 g, 106 mmol), oxetan-3-ona (11.4 g, 159 mmol), NaBH₃CN (10.0 g, 159 mmol), y cloruro de zinc (21.3 g, 159 mmol) en metanol (700 ml) se agitó a 50°C durante 5 horas. La mezcla se agregó a agua (100 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con diclorometano (3 X 200 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 40:1 diclorometano/metanol para proporcionar 113e (35 g, 73%). Ver figura 13. MS: [M+H]⁺ 434.

Ejemplo 113f (3S)-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 113f

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 113e (1.0 g, 1.0 eq., 2.3 mmol), Pin₂B₂ (1.46 g, 2.50 eq., 5.75 mmol), Pd₂(dba)₃ (105 mg, 0.05 eq., 0.125 mmol), X-Phos (93 mg, 0.1 eq., 0.23 mmol), acetato de potasio (676 mg, 3.0 eq., 6.9 mmol), y dioxano (50 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 90°C durante 4 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se lavó con 3:1 de éter de petróleo/etil acetato (80 ml) para proporcionar 113f como un sólido amarillo (1.0 g, 90%). Ver figura 13. MS: [M+H]⁺ 482.

Ejemplo 113g ácido 4-[5-(etoxicarbonil)-1H-pirrol-3-il]-4-oxobutanoico

113g

En un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 3000 ml se colocó una solución de oxolano-2,5-diona (100 g, 999.27 mmol, 2.00 equiv.) en 1,2-dicloroetano (690 ml) y AlCl_3 (400.5 g, 3.00 mol, 6.00 equiv.), seguido por la adición de una solución de etil 1H-pirrol-2-carboxilato (69 g, 495.86 mmol, 1.00 equiv.) en 1,2-dicloroetano (660 ml) por goteo con agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos (Figura 14). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se templó mediante la adición de 3 kg de agua/hielo. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con 1 x 1000 ml de agua y se secaron en un horno de vacío para proporcionar 105 g (89%) de 113g como un sólido blanco.

Ejemplo 113h ácido 4-[5-(etoxicarbonil)-1H-pirrol-3-il]butanoico 113h

En un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2000 ml se colocó una solución de 113g (105 g, 438.92 mmol, 1.00 equiv.) en CF_3COOH (1000 ml), seguido por la adición de trietilsilano (204 g, 1.75 mol, 4.00 equiv.) por goteo con agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos (Figura 14). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, se concentró bajo vacío y se diluyó con 500 ml de agua y 500 ml de etil acetato. El valor pH de la solución se ajustó a 7 con bicarbonato de sodio saturado acuoso. La solución resultante se extrajo con 3 x 500 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío para proporcionar 30 g (30%) de 113h como un sólido café claro.

Ejemplo 113i etil 7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113i

En un matraz de fondo redondo de 1000 ml se colocó una solución de 113h (30 g, 133.19 mmol, 1.00 equiv) en CF_3COOH (500 ml) y trifluoroacetil 2,2,2-trifluoroacetato (42 g, 199.97 mmol, 1.50 equiv). Ver figura 14. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 60 minutos, se concentró bajo vacío, se diluyó con 500 ml de agua y 500 ml de EA, y se extrajo con 3 x 500 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 1 x 500 ml de carbonato de potasio saturado acuoso y 1 x 500 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío para proporcionar 24 g (87%) de 113i como un sólido café claro.

Ejemplo 113j etil 6,6-difluoro-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113j

En un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2000 ml purgado y mantenido con una atmosfera inerte de nitrógeno se colocó una solución de 113i (24 g, 115.82 mmol, 1.00 equiv) en tetrahidrofurano (200 ml), seguido por la adición de LiHMDS (406 ml, 3.50 equiv) por goteo con agitación a -78°C durante 30 minutos (Figura 14). A esto se agregó una solución de N-(bencenosulfonil)-S-fenilfluoranosulfonamido (109.5 g, 347.24 mmol, 3.00 equiv) en tetrahidrofurano (500 ml) por goteo con agitación a -78°C durante 30 minutos. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se templó mediante la adición de 200 ml de NH₄Cl saturado acuoso y se extrajo con 3 x 200 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó sobre una columna de gel de sílice eluyendo con éter de petróleo/etil acetato (30:1) para proporcionar 9.5 g (34%) de 113j como un sólido amarillo.

Ejemplo 113k etil 6,6-difluoro-7-hidroxi-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113k

En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 250 ml se colocó una solución de 113j (18 g, 74.01 mmol, 1.00 equiv) en etanol (100 ml), seguido por la adición de NaBH₄ (2.8 g, 74.02 mmol, 1.00 equiv) en varios lotes a 0°C (Figura 14). La solución resultante se agitó a 5°C durante 10 minutos, se templó mediante la adición de 50 ml de NH₄Cl saturado acuoso, se concentró bajo vacío y se extrajo con 3 x 50 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 1 x 100 ml de agua y 1 x 100 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío para proporcionar 18 g (99%) de 113k como un sólido blanco.

Ejemplo 113l etil 6,6-difluoro-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113l

En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 500 ml se colocó una solución de 113k (18 g, 73.40 mmol, 1.00 equiv) en diclorometano (200 ml) y CF₃COOH (41.9 g, 367.48 mmol, 5.00 equiv), seguido por la adición de trietilsilano (25.6 g, 220.16 mmol, 3.00 equiv) por goteo con agitación a 0°C durante 20 minutos (Figura 14). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente

durante 4 horas, se ajustó el pH a 7 con bicarbonato de sodio saturado acuoso y se extrajo con 1 x 200 ml de diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 1 x 100 ml de agua y 1 x 100 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío. El producto crudo se purificó mediante HPLC instantánea de preparación para proporcionar 10 g (59%) de 113l como un sólido blanco.

Ejemplo 113m etil 1-(cianometil)-6,6-difluoro-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113m

En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 250 ml se colocó una solución de 113l (5.0 g, 21.81 mmol, 1.00 equiv) en N,N-dimetilformamida (50 ml), seguido por la adición de hidruro de sodio (1.3 g, 54.17 mmol, 1.40 equiv, 60%) en varios lotes a 0°C durante 10 minutos. (Figura 14). A esto se agregó 2-bromoacetonitrilo (3.7 g, 30.85 mmol, 1.40 equiv) por goteo con agitación a 20°C durante 10 minutos. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas, se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo con 3 x 50 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 1 x 100 ml de agua y 1 x 100 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó sobre una columna de gel de sílice eluyendo con etil acetato/éter de petróleo (1:20) para proporcionar 3.3 g (56%) de 113m como un aceite amarillo claro.

Ejemplo 113n etil 1-(2-aminoetil)-6,6-difluoro-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 113n

En un matraz de fondo redondo de 100 ml se colocó una solución de 113m (3.3 g, 12.30 mmol, 1.00 equiv) en etanol (30 ml) y $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3.2 g, 13.45 mmol, 1.10 equiv), seguido por la adición de NaBH_4 (1.4 g, 37.01 mmol, 3.00 equiv) en varios lotes a 0°C (Figura 14). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Los sólidos se filtraron y el filtrado se concentró bajo vacío. La solución resultante se diluyó con 30 ml de etil acetato y se lavó con 1 x 30 ml de cloruro de hidrógeno (2 N). La solución se ajustó a un pH=9 con bicarbonato de sodio saturado acuoso y se extrajo con 2 x 30 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío para proporcionar 0.7 g (21%) de 113n como un aceite amarillo claro.

Ejemplo 113o 7,7-difluoro-1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H,9H-pirazino[1,2-a]indol-1-ona 113o

En un matraz de fondo redondo de 250 ml se colocó una solución de 113n (10 g, 36.73 mmol, 1.00 equiv) en tolueno (100 ml) y ácido acético (1.1 g, 18.32 mmol, 0.50 equiv). Ver figura 14. La solución resultante se calentó a reflujo durante 2 horas, se enfrió y se concentró bajo vacío. El residuo se trituró en 100 ml de éter seco. El producto crudo se purificó mediante recristalización a partir de etanol para proporcionar 4.43 g (53%) de 113o como un sólido blanco. MS-ESI: [M+H]⁺227. ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 2.10-2.24 (2H, m), 2.59-2.64 (2H, m), 3.17-3.27 (2H, m), 3.43-3.48 (2H, m), 3.88-3.92 (2H, m), 6.44 (1H, s), 7.56 (1H, s).

Ejemplo 113p 2-bromo-6-(7,7-difluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-4-fluorobencil acetato 113p

Un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (40 ml), 113o (890 mg, 3.94 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c (3847 mg, 11.8 mmol), Pd₂(dba)₃ (180 mg, 0.197 mmol), XantPhos (227 mg, 0.394 mmol), y carbonato de cesio (2.57 g, 7.88 mmol). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 16 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 3:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 113p (1100 mg, 62%) como un sólido blanco. MS-ESI: [M+H]⁺ 471.1.

Ejemplo 113q (S)-2-(7,7-difluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-4-fluoro-6-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)bencil acetato 113q

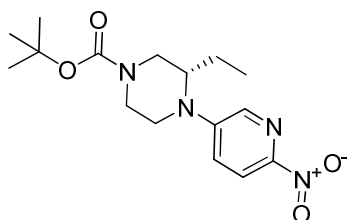
Un tubo sellado se cargó con 113p (47 mg, 0.10 mmol), 113f (47 mg, 0.10 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (4 mg, 0.005 mmol), acetato de sodio (16 mg, 0.2 mmol), K₃PO₄ (43 mg, 0.2 mmol), acetonitrilo (2 ml), y agua (0.2 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 1 hora. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 25:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 113q (37 mg, 50%) como un sólido café. MS: [M+H]⁺ 746.3.

Ejemplo 113 (S)-7,7-difluoro-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-

(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 113

Una mezcla de 113q (37 mg, 0.05 mmol) e hidróxido de litio (12 mg, 0.5 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida. Se agregó agua (10 ml) al residuo y la mezcla resultante se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación de fase inversa para proporcionar 113 (20 mg, 57%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 704.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.57-8.54 (m, 1H), 7.95 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.45-7.41 (m, 1H), 7.32 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 6.99-6.95 (m, 1H), 6.88 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 4.71-4.64 (m, 4H), 4.54 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.35-4.18 (m, 5H), 3.99-3.95 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.53 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.47-3.45 (m, 1H), 3.17 (t, J = 12.0 Hz, 1H), 3.08 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.90 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 2.66-2.63 (m, 1H), 2.56 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 2.49-2.47 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H), 0.99 (d, J = 6.0 Hz, 3H).

Ejemplo 114a (S)-ter-butil 3-etil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 114a



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (50 ml), 5-bromo-2-nitropiridina (2.02 g, 10 mmol), (S)-ter-butil 3-etilpiperazina-1-carboxilato (2.14 g, 10.0 mmol), Pd₂(dba)₃ (458 mg, 0.50 mmol), XantPhos (576 mg, 1.0 mmol), y carbonato de cesio (6.52 g, 20 mmol). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante la noche. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 3:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 114a (700 mg, 22%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 336.

Ejemplo 114b (S)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-3-etilpiperazina-1-carboxilato 114b

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con 114a (0.7 g, 2.08 mmol), paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 208 mg), y metanol (40 ml). La mezcla se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno, y se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. El hidrógeno se evacuó después y se cargó nitrógeno en el matraz. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un parche de celita y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 114b (568 mg, 89%). MS: [M+H]⁺ 306.

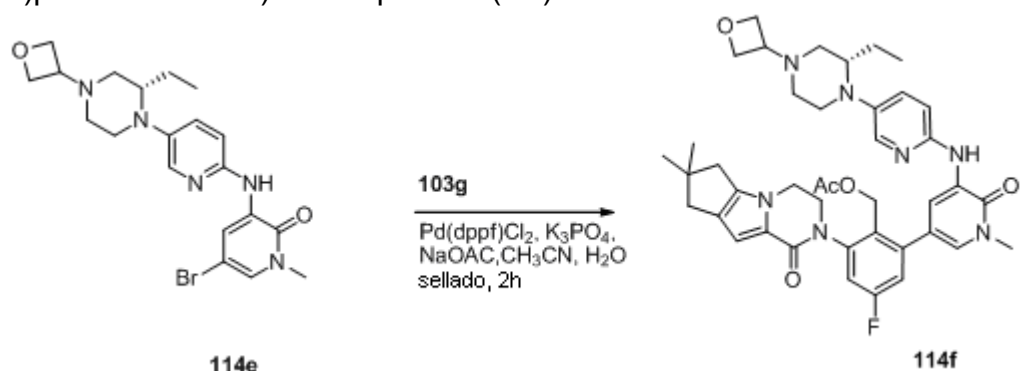
Ejemplo 114c (S)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-3-etilpiperazina-1-carboxilato 114c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (50 ml), 114b (568 mg, 1.86 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (498 mg, 1.86 mmol), Pd₂(dba)₃ (85 mg, 0.093 mmol), XantPhos (107 mg, 0.186 mmol), y carbonato de cesio (1.198 g, 3.72 mmol). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 6 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 100:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 114c (502 mg, 55%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 492.

Ejemplo 114d (S)-5-bromo-3-(5-(2-etilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil piridin-2(1H)-ona 114d

Una mezcla de 114c (502 mg, 1.02 mmol), diclorometano (2 ml), y 4.0 M de HCl/dioxano (4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Después se concentró bajo presión reducida para proporcionar 114d crudo como un sólido amarillo (263 mg, 66%), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS: [M+H]⁺ 392.

Ejemplo 114e (S)-5-bromo-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 114e



Una mezcla de 114d (263 mg, 0.67 mmol), oxetan-3-ona (96 mg, 1.34 mmol), NaBH₃CN (104 mg, 1.68 mmol), y cloruro de zinc (227 mg, 1.68 mmol) en metanol (10 ml) se agitó a 50°C durante 5 horas. Después se agregó agua (10 ml) a la reacción. La mezcla resultante se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con diclorometano tres veces. La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 50:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 114e (203 mg, 68%). MS: [M+H]⁺ 448.

Ejemplo 114f (S)-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 114f

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 114e (3219 mg, 7.20 mmol), Pin₂B₂ (9072 mg, 36.0 mmol), Pd₂(dba)₃ (329 mg, 0.36 mmol), X-phos (302 mg, 0.72 mmol), acetato de potasio (2117 mg, 21.6 mmol), y dioxano (50 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 60°C durante 16 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se lavó con 8:1 de éter de petróleo/etil acetato (80 ml) para proporcionar 114f como un sólido amarillo (3.0 g, 84%). MS: [M+H]⁺ 496.4.

Ejemplo 114g (2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0²,6]dodeca-2(6),7-dien-10-il)-6-[5-({5-[(2S)-2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il)amino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-4-fluorofenil)metil acetato 114g

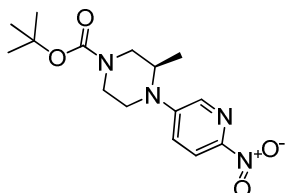
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 114f (180 mg, 0.40 mmol), (2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0²,6]dodeca-2(6),7-dien-10-il)-4-fluoro-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato 103g (198 mg, 0.40 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (29 mg, 0.04 mmol), K₃PO₄ (170 mg, 0.8 mmol), acetato de sodio (66 mg, 0.8 mmol), acetonitrilo (5 ml), y agua (1.0 ml). Después

de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 114g como un sólido amarillo (115 mg, 39%). MS: [M+H]⁺ 738.4.

Ejemplo 114 2-(3-{5-[5-((S)-2-etil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il)-5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ona 114

Una mezcla de 114g (115 mg, 0.16 mmol) e hidróxido de litio (38 mg, 1.6 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida y el residuo se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). El extracto de etil acetato combinado se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación de fase inversa para proporcionar 114 (45 mg, 40%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 696.4. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.55-8.54 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.80 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.26 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.95 (dd, J = 2.5, 8.5 Hz, 1H), 6.83-6.81 (m, 2H), 4.71 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.67 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.57-4.55 (m, 1H), 4.41-4.38 (m, 1H), 4.32-4.30 (m, 1H), 4.24-4.14 (m, 3H), 3.92-3.87 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.56-3.50 (m, 1H), 3.33-3.29 (m, 1H), 3.13-3.11 (m, 2H), 2.58-2.56 (m, 3H), 2.52 (s, 2H), 2.44-2.43 (m, 2H), 2.38-2.32 (m, 1H), 1.66-1.64 (m, 1H), 1.42-1.37 (m, 1H), 1.28 (s, 6H), 0.82 (t, J = 7.0 Hz, 3H).

Ejemplo 115a (R)-ter-butil 3-metil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 115a



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (60 ml), 5-bromo-2-nitropiridina (2.0 g, 10.0 mmol), (R)-ter-butil 3-metilpiperazina-1-carboxilato (2.0 g, 10.0 mmol), y carbonato de cesio (6.5 g, 20 mmol). Después

de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 10 minutos, se agregó tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (915 mg, 1.0 mmol) y XantPhos (579 mg, 1.0 mmol). El sistema se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a 100°C durante 15 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (3 X 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 115a (1.6 g, 44%) como un sólido amarillo. MS-ESI: [M+H]⁺ 323. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.21 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.45-7.43 (m, 1H), 4.34-4.33 (m, 1H), 3.92-3.99 (m, 1H), 3.80 (d, J = 12.5 Hz, 2H), 3.06-3.23 (m, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.09 (d, J = 6.5 Hz, 3H).

Ejemplo 115b (R)-ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-3-metilpiperazina-1-carboxilato 115b

Un matraz de 250 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con 115a (1.5 g, 4.6 mmol), paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 200 mg), y metanol (70 ml). Se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. El hidrógeno se evacuó después y se cargó nitrógeno en el matraz. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un parche de celita y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 115b (1.1 g, 81%) como un sólido café. MS-ESI: [M+H]⁺ 293.

Ejemplo 115c (R)-ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-3-metilpiperazina-1-carboxilato 115c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (40 ml), 115b (1.0 g, 3.4 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (2.7 g, 10.2 mmol), y carbonato de cesio (2.2 g, 6.8 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 10 minutos, se agregó XantPhos (198 mg, 0.34 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (313 mg, 0.34 mmol). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a 100°C durante 5 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a

temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (50 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (3 X 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 115c como un sólido amarillo (1.1 g, 63%). MS-ESI: [M+H]⁺ 478.

Ejemplo 115d (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 115d

A una mezcla de 115c (600 mg, 1.26 mmol) en metanol (20 ml) se agregó HCl/dioxano (4M, 4 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se concentró bajo presión reducida. El residuo se basificó con 1 M de NaOH acuoso y se extrajo con diclorometano (3 X 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 115d (450 mg, 95%) como un sólido amarillo. MS-ESI: [M+H]⁺ 378.

Ejemplo 115e (R)-5-bromo-3-(5-(2,4-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 115e

Una mezcla de 115d (500 mg, 1.3 mmol) y formaldehído al 30% (650 mg, 6.5 mmol) en metanol/ácido acético (30 ml/3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos, seguido por la adición de NaBH₃CN (120 mg, 1.9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se agregó agua (20 ml) y la mezcla resultante se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con diclorometano (3 X 30 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 115e como un sólido amarillo (473 mg, 92%). MS-ESI: [M+H]⁺ 392.

Ejemplo 115f (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 115f

Una mezcla de 115e (40.0 g, 106 mmol), oxetan-3-ona (11.4 g, 159 mmol), NaBH₃CN (10.0 g, 159 mmol), y cloruro de zinc (21.3 g, 159 mmol) en metanol (700 ml) se agitó a 50°C durante 5 horas. Se agregó agua (50 ml) a la mezcla y se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con

diclorometano (3 X 200 ml) y la capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 40:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 115f (35 g, 73%). MS: [M+H]⁺ 434.

5 Ejemplo 115g 2,2,2-tricloro-1-(4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-il)etanona 115g

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético, un condensador y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol (3.00 g, 24.8 mmol), cloruro de tricloroacetilo (13.5 g, 74.4 mmol) y 1,2-dicloroetano (50 ml). La solución se agitó a 85°C durante 2 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proporcionar un rendimiento de 100% (6.50 g) de 115g como un semisólido negro: ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 11.94 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 2.62 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.47 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.80 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI⁺) m/z 266.0 (M+H).

Ejemplo 115h etil 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 115h

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 115g (6.50 g, 24.8 mmol), etóxido de sodio (17.0 mg, 0.25 mmol) y etanol (40 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 100% (4.80 g) de 115h como un sólido café: mp 70–72°C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.08 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.25 (q, 2H, J = 7.2 Hz), 2.65 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.56 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.85 (m, 4H), 1.28 (t, 3H, J = 7.2 Hz); MS (ESI⁺) m/z 194.1 (M+H).

Ejemplo 115i etil 1-(cianometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 115i

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 125 ml equipado con una barra magnética y una entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con 115h (5.76 g, 29.8 mmol) y DMF (50 ml). La solución se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo. Se agregó NaH (60% dispersión en aceite mineral, 1.43 g, 35.8 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante

1 hora. Después de ese tiempo, se agregó bromoacetonitrilo (1.43 g, 35.8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (150 ml) y agua (450 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (3 × 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 55% (3.80 g) de 115i como un semisólido amarillo: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.66 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, J = 7.2 Hz), 2.62 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 2.49 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 1.92 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.33 (t, 3H, J = 7.2 Hz); MS (ESI+) m/z 233.1 (M+H).

Ejemplo 115j etil 1-(2-aminoetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 115j

Una botella de reactor Parr de 200 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 1.28 g peso en seco), 115i (3.00 g, 12.9 mmol), ácido clorhídrico al 12% (6.5 ml, 25 mmol), etil acetato (60 ml) y etanol (40 ml). La botella se unió a un hidrogenador Parr, se evacuó, se cargó con gas hidrógeno a una presión de 50 psi y se agitó durante 6 horas. Después de este tiempo, el hidrógeno se evacuó, y se cargó nitrógeno en la botella. Se agregó Celite 521 (4.0 g), y la mezcla se filtró a través de un parche de Celite 521. La masa del filtro se lavó con etanol (2 × 20 ml), y los filtrados combinados se concentraron hasta secar bajo presión reducida. El residuo se dividió entre etil acetato (150 ml) y carbonato de potasio acuoso al 10% (100 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (3 × 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se trituroó con etanol (5 ml) para proporcionar un rendimiento de 71% (1.71 g) de 115j como un sólido blanco: mp 102–104 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 6.61 (s, 1H), 6.22 (br, 2H), 4.15 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.59 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 2.42 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 1.70 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.23 (t, 3H, J = 7.0 Hz); MS (APCI+) m/z 237.2 (M+H).

Ejemplo 115k 3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 115k

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado

con una barra magnética y una entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno y se cargó con etil 1-(2-aminoetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 115j (1.80 g, 7.63 mmol), etóxido de sodio (1.55 g, 22.8 mmol) y etanol (50 ml). La mezcla se agitó a 55°C durante 5 horas. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se dividió entre etil acetato (200 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con etil acetato (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna para proporcionar un rendimiento de 42% (605 mg) de 115k como un sólido blanco: mp 207–209 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.41 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 3.84 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 3.42 (m, 2H), 2.51 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 2.42 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 1.76 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); (APCI+) m/z 191.3 (M+H).

Ejemplo 115l 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 115l

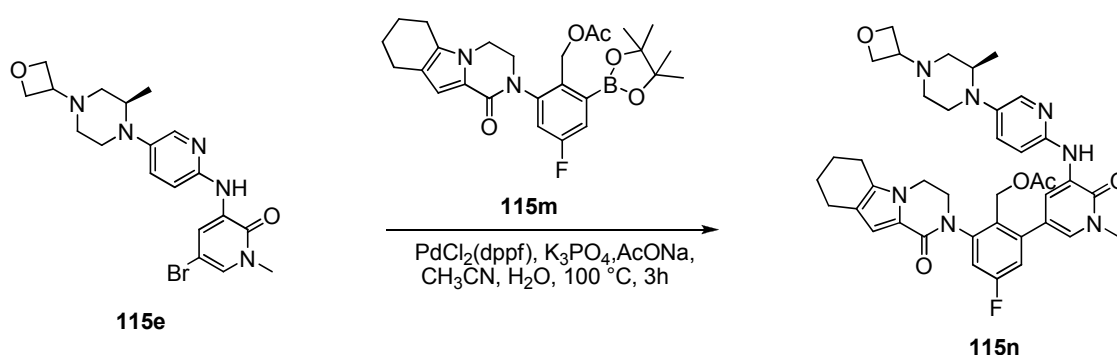
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con una barra magnética se cargó con 115k (3.8 g, 20 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c (20.0 g, 61 mmol), XantPhos (1.16 g, 2.0 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (1.83 g, 2.0 mmol), Cs₂CO₃ (16.3 g, 50 mmol), y 1,4-dioxano (120 ml). El sistema se evacuó y después se llenó de nuevo con N₂. Un condensador de reflujo se unió al matraz y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 16 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 5:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 115l como un sólido blanco (5.2 g, 60%). MS: [M+H]⁺ 435. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.71-7.69 (m, 1H), 7.49-7.47 (m, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.01 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.77 (m, 2 H), 1.68 (m, 2H).

Ejemplo 115m 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato 115m

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con una barra magnética se cargó con 115l (3.8 g, 8.8 mmol), (PinB)₂ (10.9 g, 43 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (0.37 g, 0.50 mmol), acetato de potasio (2.55 g, 26 mmol), y

1,4-dioxano (150 ml). El sistema se evacuó y después se llenó de nuevo con N₂. Un condensador de reflujo se unió al matraz y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 5:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 115m como un sólido amarillo (3.2 g, 75%). MS: [M+H]⁺ 483.

Ejemplo 115n (R)-4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino [1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 115n

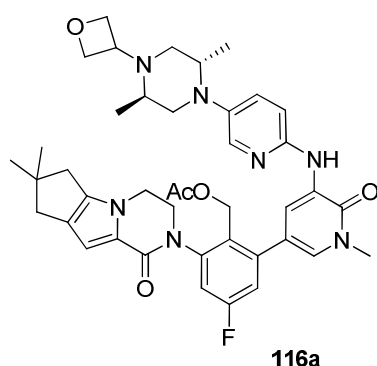


Si siguiendo el procedimiento en el ejemplo 102 y comenzando con 115e (220 mg, 0.50 mmol, 1.0 eq.), 115m (482 mg, 1.0 mmol, 2.0 eq.) se proporcionó 115n como un sólido amarillo (195 mg, 55%). MS: [M+H]⁺ 710.4.

Ejemplo 115 (R)-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 115

Si siguiendo el procedimiento en el ejemplo 102 y comenzando con 115n (190 mg, 0.27 mmol) se proporcionó 115 como un sólido blanco (47 mg, 26%). MS: [M+H]⁺ 668.4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.58 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.84 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.36-7.32 (m, 3H), 7.25-7.18 (m, 2H), 6.52 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.56-4.42 (m, 4H), 4.31-4.30 (m, 2H), 4.18-4.13 (m, 3H), 3.89-3.88 (m, 1H), 3.68-3.67 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.39-3.38 (m, 1H), 3.08-3.07 (m, 1H), 2.94-2.93 (m, 1H), 2.51-2.45 (m, 5H), 2.33-2.32 (m, 2H), 2.19-2.18 (m, 1H), 1.79-1.69 (m, 4H), 0.93-0.92 (m, 3H).

Ejemplo 116a {2-[5-({5-[(2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridina-2-il}amino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-6-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluorofenil}metil acetato 116a



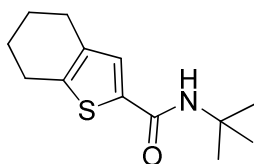
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con una barra magnética y un condensador de reflujo se cargó con 5-bromo-3-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 104e (134 mg, 0.30 mmol), 1-metil-3-(5-(4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetra-metil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 103g (298 mg, 0.6 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (22 mg, 0.03 mmol), K₃PO₄ (127 mg, 0.6 mmol), acetato de sodio (49 mg, 0.6 mmol), acetonitrilo (5 ml), y agua (1.0 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 116a como un sólido amarillo (150 mg, 68%). MS: [M+H]⁺ 738.3.

Ejemplo 116 2-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ona 116

Una mezcla de 116a (150 mg, 0.20 mmol) e hidróxido de litio (48 mg, 2.0 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida. El residuo resultante se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 116 (57 mg, 41%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 696.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.60 (dd, J = 2.0, 6.5 Hz, 1H), 8.02 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.50-7.49 (m, 1H), 7.37 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.16 (d, J

= 9.0 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 2.5, 9.0 Hz, 1H), 6.83-6.81 (m, 2H), 4.77-4.74 (m, 2H), 4.66-4.62 (m, 2H), 4.57-4.55 (m, 1H), 4.33-4.31 (m, 1H), 4.23-4.14 (m, 3H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.22-3.20 (m, 1H), 2.93-2.91 (m, 1H), 2.75-2.73 (m, 2H), 2.58 (s, 2H), 2.52 (s, 3H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.28 (s, 6H), 0.91 (d, J = 5.5 Hz, 6H).

Ejemplo 117a N-ter-butil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofeno-2-carboxamida 117a



Una mezcla de ácido 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofeno-2-carboxílico (500 g, 2.75 mol, 1.0 equiv) y cloruro de tionilo (655 g, 5.5 mol, 2.0 equiv) se hirvió bajo reflujo durante 3 horas. El exceso de cloruro de tionilo se retiró mediante destilación bajo presión reducida. El residuo se absorbió en diclorometano (1.0 L) y se agregó una solución de ter-butilamina (402 g, 5.5 mol, 2.0 equiv) en diclorometano (500 ml) con agitación mientras la temperatura de la mezcla se mantuvo por debajo de 10°C. La solución resultante se agitó a 25°C durante 16 horas. La mayor parte del solvente se retiró bajo presión reducida. El residuo se enfrió en un baño de hielo y se introdujo lentamente 2 M de solución de KOH para ajustar el pH a 11 con agitación. La suspensión se filtró y el sólido se recolectó, se lavó tres veces con agua, y se secó in vacuo para proporcionar 117a como un sólido blanco (580 g, 80%, durante dos etapas). MS: [M+H]⁺ 238. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.02 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 2.65 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 2.47 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 1.74-1.70 (m, 4H), 1.35 (s, 9H).

Ejemplo 117b N-ter-butil-3-(diazenilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofeno-2-carboxamida 117b

A una solución de 117a (100 g, 0.42 mol, 1.0 equiv) en THF (500 ml) se agregó lentamente n-BuLi (672 ml, 2.5M en THF, 1.68 mol, 4.0 equiv) a -78°C bajo argón. La mezcla se agitó durante 2 horas. Se agregó DMF (306 g, 4.2 mol, 10.0 equiv) a la mezcla mientras la temperatura se mantuvo a -78°C. Después de otras 2.0 horas, la reacción se templó con metanol (500 ml) a -78°C. Se agitó durante 0.50 horas a temperatura ambiente. Se agregó hidrato de hidrazina

acuosa al 80% (131 g, 2.1 mol) y la mezcla se sometió a reflujo a 65°C durante la noche. El solvente orgánico se retiró bajo presión reducida. El residuo se filtró y el sólido amarillo se recolectó y se lavó con agua. El sólido se secó in vacuo para proporcionar 117b crudo, que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS: [M+H]⁺ 280.

Ejemplo 117c 8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0²,7]trideca-(9),2(7),3-trien-6-ona 117c

Una mezcla de 117b (40 g, 144 mmol) en H₂SO₄ (30% acuoso, 3 L) se sometió a reflujo a 105°C durante 24 horas. Después se filtró y el filtrado se extrajo mediante diclorometano (3 x 1 L). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 100:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 117c como un sólido blanco (9.0 g, 31%). MS: [M+H]⁺ 207. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.15 (s, 1H), 2.96-2.94 (m, 2H), 2.86-2.84 (m, 2H), 1.96-1.94 (m, 4H).

Ejemplo 117d (2-bromo-4-fluoro-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0²,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil)metil acetato 117d

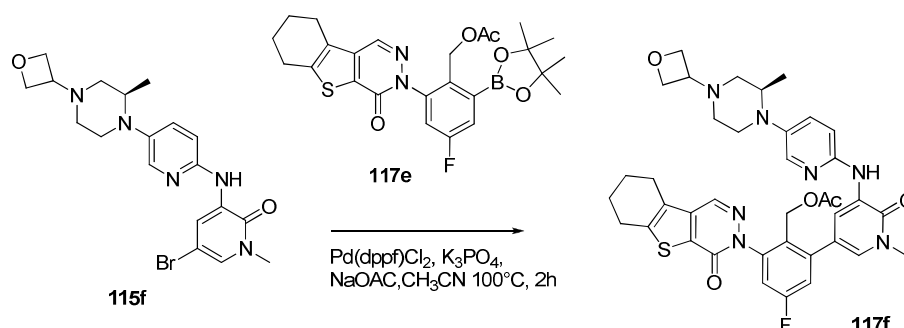
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 117c (1.0 g, 4.85 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c (4.8 g, 14.6 mmol), yoduro de cobre(I) (553 mg, 2.9 mmol), N₁,N₂-dimetiletano-1,2-diamina (512 mg, 5.82 mmol), Cs₂CO₃ (3.2 g, 9.7 mmol), y 1,4-dioxano (50 ml). El sistema se evacuó y después se llenó de nuevo con N₂. Un condensador de reflujo se unió al matraz, y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 16 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 5:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 117d como un sólido amarillo (437 mg, 20%). MS: [M+H]⁺ 451.

Ejemplo 117e (4-fluoro-2-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0²,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato 117e

Siguiendo el procedimiento en el ejemplo 104 y comenzando con 117d (400 mg 0.88 mmol) se proporcionó 117e como un sólido amarillo (353 mg,

80%). MS: [M+H]⁺ 499.

Ejemplo 117f {4-fluoro-2-[1-metil-5-({5-[(2R)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-6-oxopiridin-3-il]-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil}metil acetato 117f

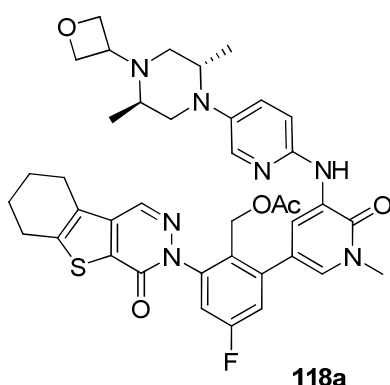


Seguendo el procedimiento en el ejemplo 102 y comenzando con (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 115f (217 mg, 0.50 mmol) y 117e (249 mg, 0.50 mmol) se proporcionó 117f como un sólido amarillo (174 mg, 48%). MS: [M+H]⁺ 726.

Ejemplo 117 3-(5-fluoro-2-hidroximetil-3-{1-metil-5-[5-((R)-2-metil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona 117

Seguendo el procedimiento en el ejemplo 102 y comenzando con 117f (72 mg, 0.10 mmol) se proporcionó 117 como un sólido amarillo (35 mg, 51%). LCMS: [M+H]⁺ 684. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.56 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.85 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.37-7.32 (m, 4H), 7.24 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.47-4.41 (m, 2H), 4.28-4.27 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.68-3.66 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.40-3.38 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.93-2.91 (m, 3H), 2.84-2.82 (m, 2H), 2.54-2.52 (m, 1H), 2.32-2.30 (m, 2H), 2.19-2.18 (m, 1H), 1.89-1.84 (m, 4H), 0.93 (t, J=6.5 Hz, 2H).

Ejemplo 118a {2-[5-({5-[(2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-4-fluoro-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil}metil acetato 118^a



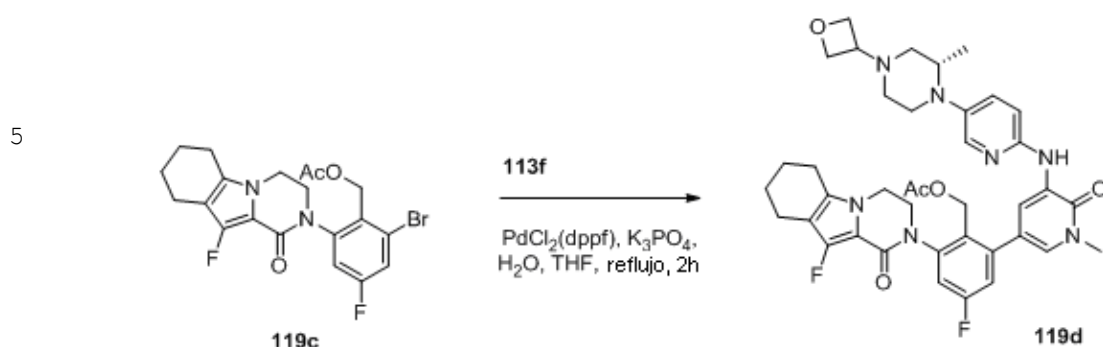
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con
 5 un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 5-bromo-3-(5-
 ((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-
 2(1H)-ona 104e (179 mg, 0.40 mmol), (4-fluoro-2-{6-oxo-8-tia-4,5-
 diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-
 dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato 117d (200 mg, 0.40 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (29
 10 mg, 0.04 mmol), K₃PO₄ (170 mg, 0.8 mmol), acetato de sodio (66 mg, 0.8 mmol),
 acetonitrilo (5 ml), agua (1.0 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón,
 la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura
 ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo
 resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo
 15 con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 118a como un sólido
 amarillo (100 mg, 34%). MS: [M+H]⁺ 740.3.

Ejemplo 118 3-(3-{5-[5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-
 il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-5-fluoro-2-hidroximetil-
 fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona 118

20 Una mezcla de 118a (100 mg, 0.135 mmol) e hidróxido de litio (33
 mg, 1.35 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C
 durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida. El residuo
 resultante se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). La capa orgánica combinada se
 concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de
 25 preparación en fase inversa para proporcionar 118 (36 mg, 38%) como un sólido
 blanco. MS: [M+H]⁺ 698.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.64 (d, J = 2.0 Hz, 1H),
 8.27 (s, 1H), 8.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.48 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.37 (d,
 J = 5.5 Hz, 1H), 7.30 (dd, J = 2.5, 9.0 Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 2.5, 8.5 Hz, 1H), 6.82
 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.79-4.73 (m, 2H), 4.67-4.61 (m, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.77 (t,
 30 J=7.0 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.21-3.19 (m, 1H), 2.99-2.98 (m, 2H), 2.94-2.91 (m,
 1H), 2.88-2.86 (m, 2H), 2.78-2.71 (m, 2H), 2.51-2.49 (m, 1H), 1.99-1.96 (m, 6H),
 0.92-0.90 (m, 6H).

Ejemplo 119a 2-bromo-4-fluoro-6-(10-fluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-

hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)encil acetato 119a



10 Ejemplo 119a 10-bromo-1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H,9H-pirazino[1,2-a]indol-1-ona 119a

En un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 250 ml se colocó una solución de 1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H,9H-pirazino[1,2-a]indol-1-ona 104j (9.5 g, 49.94 mmol, 1.00 equiv) en N,N-dimetilformamida (100 ml), seguido por la adición de N-bromosuccinimida (9.8 g, 55.06 mmol, 1.10 equiv) en varios lotes a 0°C. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con 500 ml de agua. El precipitado se filtró y se secó en un horno de vacío para proporcionar 9.5 g (71%) de 119a como un sólido café claro.

20 Ejemplo 119b 10-fluoro-1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H,9H-pirazino[1,2-a]indol-1-ona 119b

En un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2 litros purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno se colocó una solución de 119a (40 g, 148.62 mmol, 1.00 equiv) en tetrahidrofurano (200 ml), seguido por la adición de n-BuLi (2.4 M) (218 ml, 3.50 equiv) por goteo con agitación a -78°C. La solución resultante se agitó a -40°C durante 3 horas. A esta se agregó una solución de N-fluorobencenosulfonimida (98.7 g, 313.33 mmol, 2.10 equiv) en tetrahidrofurano (200 ml) por goteo con agitación a -78°C. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se templó mediante la adición de 200 ml de agua y se extrajo con 3 x 500 ml de etil acetato. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo vacío. El producto crudo (30 g) se purificó mediante HPLC de preparación con las siguientes condiciones (fase móvil, A: 0.05% ácido trifluoroacético/agua; B: CH₃CN; gradiente: 10% B-25% B) para proporcionar 5.05

g (16%) de 119b como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 209. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.16 (br, 1H), 3.90-3.86 (m, 2H), 3.65-3.62 (m, 2H), 2.53-2.47 (m, 4H), 1.88-1.80 (m, 2H), 1.77-1.72 (m, 2H).

Ejemplo 119c 2-bromo-4-fluoro-6-(10-fluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 119c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (60 ml), 2,6-dibromo-4-fluorobencil acetato 101c (2.34 g, 7.2 mmol), 119b (500 mg, 2.4 mmol), y carbonato de cesio (1.6 g, 4.8 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 30 minutos, se agregó Xantphos (140 mg, 0.24 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (220 mg, 0.24 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 12 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (40 ml) y agua (40 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (3 X 70 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice eluyendo con 3:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 119c (632 mg, 58%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 453.2.

Ejemplo 119d (S)-4-fluoro-2-(10-fluoro-1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)bencil acetato 119d

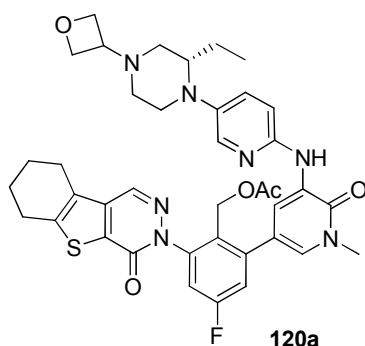
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 50 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 119c (150 mg, 1.0 eq., 0.33 mmol), (S)-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 113f (160 mg, 1.0 eq., 0.33 mmol), K₃PO₄ (210 mg, 3.0 eq., 0.99 mmol), PdCl₂(dppf) (27.0 mg, 0.10 eq., 0.033 mmol), THF (20 ml), y agua (0.1 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 40:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 119d

como un sólido amarillo (90 mg, 37%). MS: [M+H]⁺ 728.3.

Ejemplo 119 (S)-10-fluoro-2-(5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 119

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 50 ml equipado con un agitador magnético se cargó con 119d (90 mg, 1.0 eq., 0.12 mmol), hidróxido de litio (9.0 mg, 3.0 eq., 0.37 mmol), i-propanol (3 ml), THF (3 ml), y agua (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 119 (42 mg, 49%). MS: [M+H]⁺ 686.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (dd, J = 2.0 Hz, 9.0, 1H), 7.94-7.93 (m, 1H), 7.81 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.45-7.44 (m, 1H), 7.31 (dd, J = 3.0, 9.0 Hz, 1H), 7.15-7.14 (m, 1H), 6.94 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.71-4.61 (m, 4H), 4.53 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 4.32-4.31 (m, 2H), 4.15-4.08 (m, 3H), 3.89-3.86 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.55-3.43 (m, 2H), 3.07 (m, 2H), 2.57-2.46 (m, 7H), 2.20-2.16 (m, 1H), 1.88-1.76 (m, 4H), 0.98-0.96 (m, 3H).

Ejemplo 120a {2-[5-({5-[(2S)-2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]-4-fluoro-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}fenil}metil acetato 120a



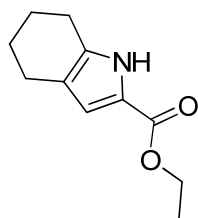
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con (S)-5-bromo-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 114e (179 mg, 0.40 mmol), (4-fluoro-2-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato 117e (200 mg, 0.40 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (29 mg, 0.04 mmol), K₃PO₄ (170 mg, 0.8

mmol), acetato de sodio (66 mg, 0.8 mmol), acetonitrilo (5 ml), y agua (1.0 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 120a como un sólido amarillo (120 mg, 41%). MS: [M+H]⁺ 740.3.

Ejemplo 120 3-(3-{5-[5-((S)-2-etil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-5-fluoro-2-hidroximetil-fenil)-6,7,8,9-tetrahidro-3H-benzo[4,5]tieno[2,3-d]piridazin-4-ona 120

Una mezcla de 120a (120 mg, 0.16 mmol) e hidróxido de litio (38 mg, 1.6 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida. El residuo resultante se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 120 (73 mg, 65%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 698.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.58 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.94 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.45 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 2.5, 8.0 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.72-4.62 (m, 4H), 4.31 (s, 2H), 4.01 (bs, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.53 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.34-3.32 (m, 1H), 3.13 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.99 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.87 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.60-2.56 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 2H), 2.36-2.34 (m, 1H), 2.01-1.96 (m, 4H), 1.71-1.68 (m, 1H), 1.44-1.36 (m, 1H), 0.83 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

Ejemplo 121a etil 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 121a



A una mezcla de etil 3-(2-clorociclohex-1-enil)acrilato (21.4 g, 100 mmol) en DMSO (100 ml) se agregó azida de sodio (9.75 g, 150 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 105°C durante 4 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se vació en agua helada. El precipitado resultante se recolectó mediante filtración para proporcionar 121a (18.0 g, 93.3%).

MS-ESI: [M+H]⁺ 194.

Ejemplo 121b etil 1-(2,2-dietoxietil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxilato 121b

A una suspensión de NaH (1.44 g, 60.2 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (30 ml) se agregó lentamente 121a (5.80 g, 30.1 mmol) a 0°C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0.5 horas, seguido por la adición de 2-bromo-1,1-dietoxietano (11.9 g, 60.2 mmol). La reacción se calentó a 70°C durante 30 horas y se templó con agua (100 ml). La mezcla se extrajo entonces con etil acetato (3 x 100 ml). La fase orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó con cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 40:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 121b (4.7 g, 51%). MS-ESI: [M-etanol+H]⁺ 264. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 6.65 (s, 1H), 4.59 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.17-4.16 (m, 4H), 3.59-3.57 (m, 2H), 3.27-3.26 (m, 2H), 2.61 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.51 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.73-1.71 (m, 2H), 1.63-1.61 (m, 2H), 1.25 (t, J = 7.0 Hz, 3 H), 1.02 (t, J = 7.0 Hz, 6H).

Ejemplo 121c ácido 1-(2,2-dietoxietil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxílico 121c

A una mezcla de 121b (4.7 g, 15.2 mmol) en un solvente mezclado de etanol (20 ml), tetrahidrofurano (20 ml), y agua (30 ml) se agregó hidróxido de sodio (3.0 g, 75.0 mmol). La reacción se calentó a 75°C durante dos días y se concentró bajo presión reducida. El residuo se suspendió en agua y neutralizó con solución diluida acuosa de ácido cítrico. La mezcla se extrajo con etil acetato (3 X 100 ml) y la fase orgánica combinada se concentró bajo presión reducida para proporcionar 121c (3.32 g, 78%). MS-ESI: [M-etanol+H]⁺ 236.

Ejemplo 121d 1-(2,2-dietoxietil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indol-2-carboxamida 121d

A una mezcla de 121c (2.8 g, 10.0 mmol) en N,N-dimetilformamida (30 ml) se agregó hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) (5.7 g, 15.0 mmol), trietilamina (1.5 g, 15.0 mmol), y DMAP (128 mg, 1.0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregó hidróxido de amonio saturado (30 ml) y la mezcla resultante se agitó adicionalmente durante 2 horas. Después se diluyó con

agua (100 ml) y se extrajo con etil acetato (3 X 100 ml). La fase orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con de éter de petróleo/etil acetato (6:1 a 3:1) para proporcionar 121d (2.7 g, 96%). MS-ESI: [M-etanol+H]⁺ 235. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.35 (bs, 1H), 6.70 (bs, 1H), 6.60 (s, 1H), 4.60 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.18 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.57-3.56 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.57 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.71 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 1.64 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 1.01 (t, J = 7.0 Hz, 6H).

Ejemplo 121e 6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 121e

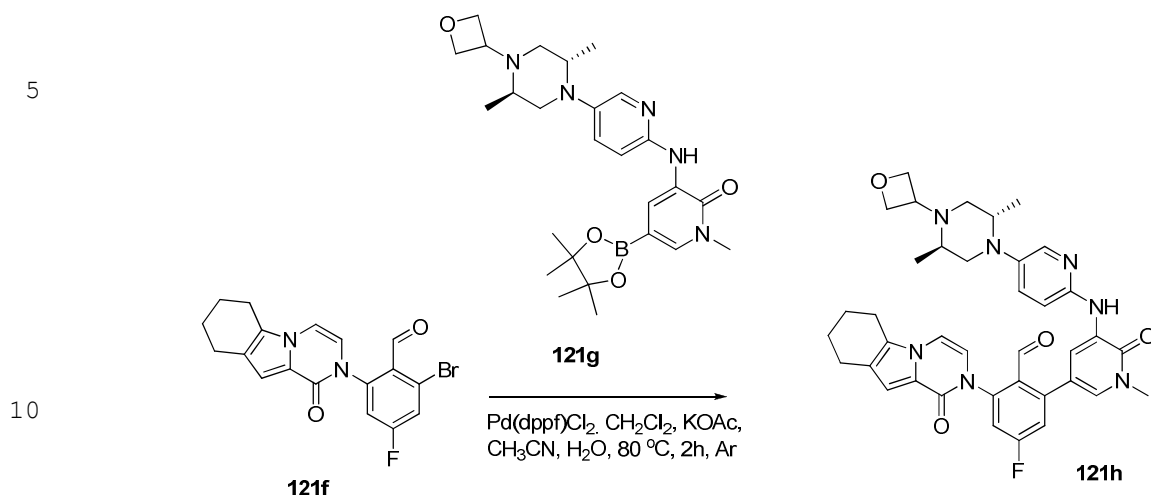
Una mezcla de 121d (2.7 g, 9.6 mmol) y ácido acético (10 ml) se calentó a 110°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó con solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con etil acetato (3 X 30 ml). La fase orgánica combinada se concentró bajo presión reducida para proporcionar 121e como un sólido amarillo (1.6 g, 88%). MS-ESI: [M+H]⁺ 189.3. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10.28 (s, 1H), 7.02 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), , 6.52 (pt, J = 5.5 Hz, 1H), 2.66 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.57 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.83-1.82 (m, 2H), 1.73-1.72 (m, 2H).

Ejemplo 121f 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)benzaldehído 121f

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 121e (500 mg, 2.66 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído (1.50 g, 5.32 mmol), y acetato de potasio (521 mg, 5.32 mmol). Después de burbujear argón a través de la suspensión durante 30 minutos, se agregó 4,7-dimetoxi-1,10-fenantrolina (638.4 mg, 2.66 mmol) y yoduro de cobre (506 mg, 2.66 mmol). El sistema se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y después se calentó a 100°C durante 16 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido se lavó con diclorometano (2 X 100 ml). El filtrado combinado se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con éter de petróleo/etil acetato (10:1 to 3:1) para proporcionar 121f (510 mg, 49 %) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 389.

Ejemplo 121g 3-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-

2(1H)-ona 121g



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 5-bromo-3-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 104e (3.0 g, 6.70 mmol), Pin₂B₂ (8442 mg, 33.5 mmol), Pd₂(dba)₃ (311 mg, 0.34 mmol), X-phos (319 mg, 0.67 mmol), acetato de potasio (1970 mg, 20.1 mmol), y dioxano (50 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 60°C durante 16 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se lavó con 8:1 de éter de petróleo/etil acetato (80 ml) para proporcionar 121g como un sólido amarillo (3 g, 90%). MS: [M+H]⁺ 496.4.

15

20

Ejemplo 121h 2-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)benzaldehído 121h

25

Un matraz de fondo redondo de 50 ml se cargó con 121f (194 mg, 0.5 mmol), 121g (347.0 mg, 0.7 mmol), acetato de potasio (98.0 mg, 1.0 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-dicloropaladio(II) (20.4 mg, 0.025 mmol), agua (0.5 ml), y acetonitrilo (20 ml). El sistema se sometió a 3 ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a 100°C bajo atmosfera de argón y durante 3 horas. El análisis de la mezcla de reacción mediante LCMS mostró poco material de inicio restante. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se diluyó con diclorometano (50 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se

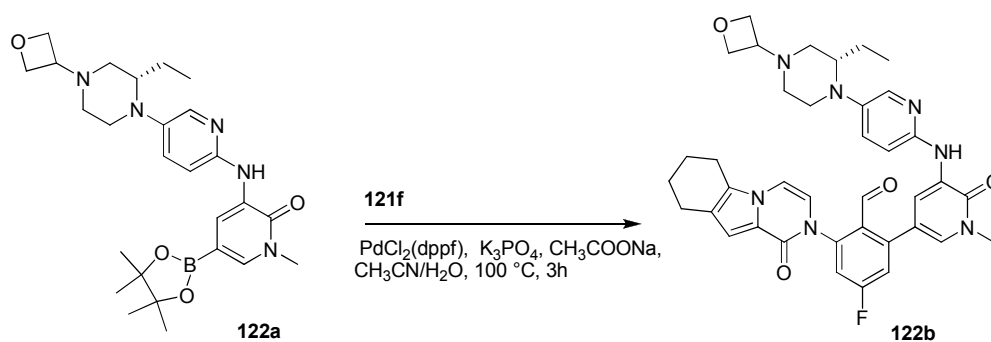
30

separó y se extrajo con diclorometano (3 x 20 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El residuo oscuro se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con diclorometano/metanol (80/1 to 30/1) para proporcionar 121g (182 mg, 54 %) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 678.

Ejemplo 121 2-(3-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 121

A una solución de 121h (150 mg, 0.22 mmol) en metanol (10 ml) se agregó NaBH₄ (41.8 mg, 1.1 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar la reacción durante 1 hora, la LCMS indicó que la reacción estaba completa. La mezcla se vació en agua (30 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con diclorometano (3 X 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El residuo sólido se purificó mediante HPLC de preparación para proporcionar 121 (60.3 mg, 40%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 680. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.63 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.90 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.41 (m, 2H), 7.31-7.23 (m, 4H), 6.78 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 4.80 (m, 1H), 4.55-4.54 (m, 2H), 4.49-4.48 (m, 2H), 4.28-4.20 (m, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.29-3.27 (m, 2H), 2.89-2.88 (m, 1H), 2.75-2.67 (m, 4H), 2.61 (m, 2H), 1.93-1.86 (m, 3H), 1.59 (m, 2H), 0.85-0.81 (m, 6H).

Ejemplo 122a (S)-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 122a



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con (S)-5-bromo-3-(5-(2-etil-4-

(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridina-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 114e (3219 mg, 7.20 mmol), Pin_2B_2 (9072 mg, 36.0 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (329 mg, 0.36 mmol), X-phos (302 mg, 0.72 mmol), acetato de potasio (2117 mg, 21.6 mmol), y dioxano (50 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 60°C durante 16 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se lavó con 8:1 de éter de petróleo/etil acetato (80 ml) para proporcionar 122a como un sólido amarillo (3.0 g, 84%).

Ejemplo 122b (S)-2-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)benzaldehído 122b

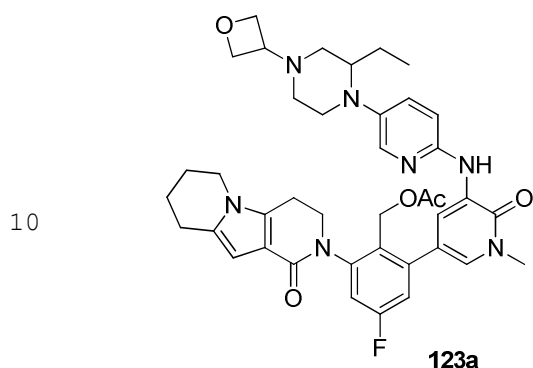
Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)benzaldehído 121f (159 mg, 0.41 mmol), 122a (213 mg, 0.43 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (29 mg, 0.04 mmol), K_3PO_4 (182 mg, 0.86 mmol), acetato de sodio (71 mg, 0.86 mmol), acetonitrilo (15 ml), y agua (1.5 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 80°C durante 3 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 1:20 metanol/diclorometano para proporcionar 122b como un sólido rojo (120 mg, 43%). MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 678.3.

Ejemplo 122 (S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-6,7,8,9-tetrahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 122

Una mezcla de 122b (100 mg, 0.15 mmol), NaBH_4 (22 mg, 0.60), y metanol (10 ml) se agitó a 25°C durante 1 hora. Después se templó con agua (5 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con diclorometano (2 X 10 ml) y la capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 122 (32 mg, 31%). MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 680.3. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 7.53 (s, 1 H), 7.28-7.26 (m, 2 H), 7.05 (s, 1 H), 6.97-6.93 (m, 2 H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 6.45 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.71-4.61 (m, 4 H), 4.38 (d, J = 12.0 Hz, 1 H), 4.36 (d, J = 11.5 Hz, 1 H), 3.70 (s, 3 H),

3.52 (bs, 1 H), 3.31 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 3.13-3.10 (m, 2H), 2.75-2.70 (m, 4H), 2.56-2.43 (m, 4H), 1.98-1.96 (m, 2H), 1.85-1.84 (m, 2H), 1.39-1.36 (m, 2H), 0.82 (t, J = 7.0 Hz, 3H).

Ejemplo 123a 2-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 123a



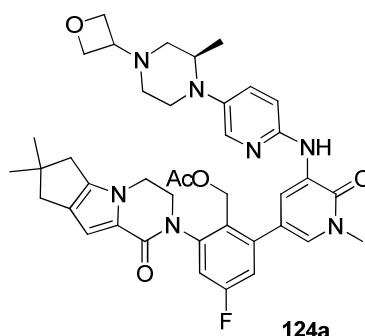
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml se cargó con 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 101h (120 mg, 0.27 mmol), (S)-3-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 122a (158.4 mg, 0.32 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (24.5 mg, 0.03 mmol), K₃PO₄ (114.5 mg, 0.54 mmol), trihidrato de acetato de sodio (73.4 mg, 0.54 mmol), agua (0.5 ml), y acetonitrilo (20 ml). El sistema se evacuó y se llenó de nuevo con N₂. La mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 25:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 123a (105 mg, 53%) como un sólido café amarillento. MS: [M+H]⁺ 724.3.

Ejemplo 123 (S)-2-(3-(5-(5-(2-etil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1(2H)-ona 123

Una mezcla de 123a (105 mg, 0.15 mmol) e hidróxido de litio (36 mg, 1.5 mmol) en i-propanol/THF (1:1, 4 ml) y agua (1 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida y el residuo se extrajo con etil acetato (2 X 10 ml). El extracto combinado de etil acetato se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 123 (40 mg, 40%) como un sólido rosa claro. MS:

[M+H]⁺ 682.3. ¹H NMR (500 M, CHCl₃) δ 8.55 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.29 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.15-7.12 (m, 1H), 6.94 (dd, J = 3.5 Hz, 10.5, 1H), 6.81 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.77-4.74 (m, 4H), 4.72-4.70 (m, 1H), 4.57-4.55 (m, 1H), 4.29-4.24 (m, 1H), 4.12-4.05 (m, 1H), 3.90-3.78 (m, 4H), 3.70 (s, 3H), 3.52-3.50 (m, 1H), 3.32-3.30 (m, 1H), 3.12-3.10 (m, 2H), 3.04-2.83 (m, 2H), 2.81 (m, 2H), 2.57-2.50 (m, 1H), 2.43-2.33 (m, 2H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.87-1.85 (m, 2H), 1.49-1.35 (m, 2H), 0.81 (t, J = 8.5 Hz, 3H).

Ejemplo 124a (2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluoro-6-[1-metil-5-({5-[(2R)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]fenil)metil acetato 124a



Un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con (R)-5-bromo-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)piridin-2(1H)-ona 115f (152 mg, 0.35 mmol), (2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluoro-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metil acetato 103g (206 mg, 0.415 mmol), PdCl₂(dppf) (28 mg, 0.04 mmol), K₃PO₄ (147 mg, 0.69 mmol), acetato de sodio (57 mg, 0.69 mmol), acetonitrilo (20 ml), y agua (2 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 3 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó en cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 1:20 de metanol/diclorometano para proporcionar 124a como un sólido rojo (70 mg, 28%). MS: [M+H]⁺ 724.2.

Ejemplo 124 2-(5-fluoro-2-hidroximetil-3-{1-metil-5-[5-((R)-2-metil-4-oxetan-3-il-piperazin-1-il)-piridin-2-ilamino]-6-oxo-1,6-dihidro-piridin-3-il}-fenil)-7,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-2H,6H-ciclopenta[4,5]pyrrolo[1,2-a]pirazin-1-ona 124

Una mezcla de 124a (59 mg, 0.080 mmol), hidróxido de litio (19 mg,

0.80 mmol), THF (10 ml), i-propanol (8 ml), y agua (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 horas. Después se concentró bajo presión reducida y el residuo se extrajo con diclorometano (2 X 10 ml). El extracto combinado de diclorometano se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó con HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 124 (43 mg, 79%). MS: [M+H]⁺ 682.3. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.58-8.57 (m, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.84 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.37-7.31 (m, 3H), 7.22 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 6.50 (s, 1H), 4.87 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.46 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.31 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 4.21-4.18 (m, 2H), 4.15-4.10 (m, 1H), 3.88-3.85 (m, 1H), 3.67 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.41-3.37 (m, 2H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.95-2.91 (m, 1H), 2.56 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 2.41 (s, 2H), 2.32-2.28 (m, 2H), 2.17-2.15 (m, 1H), 1.21 (s, 6H), 0.91 (d, J = 6.5 Hz, 3H).

Ejemplo 125a ter-butil 3,3-dimetil-4-(6-nitropiridin-3-il)piperazina-1-carboxilato 125a

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 5-bromo-2-nitropiridina (5.6 g, 28.0 mmol), ter-butil 3,3-dimetil-piperazina-1-carboxilato (3.0 g, 14.0 mmol), carbonato de cesio (9.1 g, 28 mmol), y 1,4-dioxano (50 ml). Después de burbujear nitrógeno a través de la solución resultante durante 30 minutos, se agregó Binap (870 mg, 1.4 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (1.2 g, 1.4 mmol). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y se agitó a 120°C durante 24 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el filtrado se dividió entre etil acetato (200 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (3 × 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 5:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 125a (1.27 g, 27%). LCMS: [M+H]⁺ 337.2.

Ejemplo 125b ter-butil 4-(6-aminopiridin-3-il)-3,3-dimetilpiperazina-1-carboxilato 125b

Un matraz de fondo redondo de 50 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con 125a (1100 mg, 3.2 mmol), paladio sobre carbono al 10% (10% en

húmedo, 110 mg), y metanol (20 ml). Después se evacuó, se cargó con gas hidrógeno, y se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El hidrógeno se evacuó y se cargó nitrógeno en el matraz. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un parche de celita y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 125b (950 mg, 94%). LCMS: [M+H]⁺ 307.3.

Ejemplo 125c ter-butil 4-(6-(5-bromo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-ilamino)piridin-3-il)-3,3-dimetilpiperazina-1-carboxilato 125c

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 125b (950 mg, 3.1 mmol), 3,5-dibromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (1240 mg, 4.6 mmol), 1,4-dioxano (30 ml), y carbonato de cesio (2015 mg, 6.2 mmol). Después de burbujear nitrógeno a través de la solución resultante durante 5 minutos, se agregó Xantphos (179 mg, 0.31 mmol) y tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (283 mg, 0.31 mmol). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a reflujo durante 10 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre etil acetato (50 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con etil acetato (3 × 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 4:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 125c (1.21 g, 79%). LCMS: [M+H]⁺ 492.1.

Ejemplo 125d 5-bromo-3-(5-(2,2-dimetilpiperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 125d

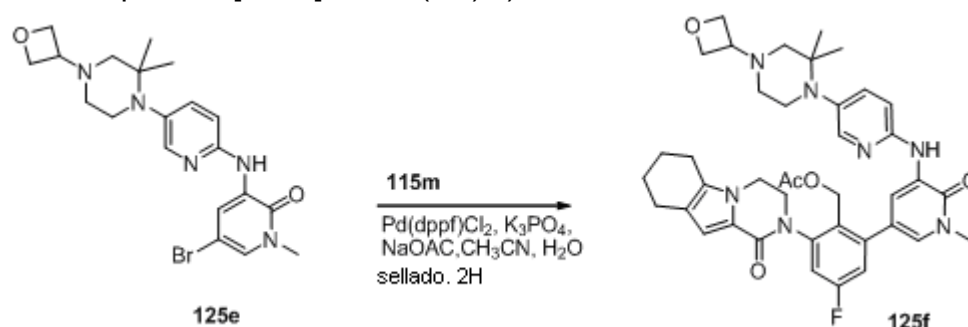
A la solución de 125c (1.19 g, 1.9 mmol) en diclorometano (20 ml) se agregaron 3M de HCl en dietil éter (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se concentró bajo presión reducida para proporcionar 125d (900 mg, 95%). LCMS: [M+H]⁺ 392.1.

Ejemplo 125e 5-bromo-3-(5-(2,2-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metilpiridin-2(1H)-ona 125e

Una mezcla de 125d (900 mg, 2.3 mmol), oxetan-3-ona (497 mg, 6.9 mmol), NaBH₃CN (435 mg, 6.9 mmol), y cloruro de zinc (311 mg, 2.3 mmol) en metanol (30 ml) se agitó a 50°C durante 4 horas. Después se concentró bajo

presión reducida. Se agregó agua (10 ml) al residuo y la mezcla se extrajo con CHCl_3 (3 X 50 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 50:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 125e (800 mg, 78%). LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448.1. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.65 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 6.96 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.69-4.61 (m, 4H), 3.60 (s, 3H), 3.50-3.14 (m, 3H), 2.43-2.17 (m, 4H), 1.06 (s, 6H).

Ejemplo 125f 2-(5-(5-(2,2-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)bencil acetato 125f



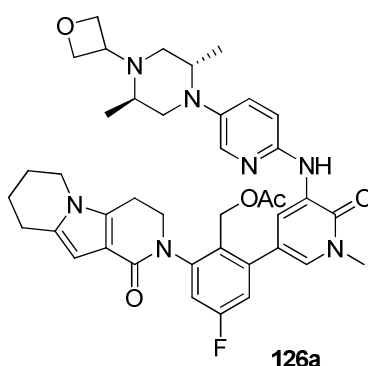
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 50 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 125e (190 mg, 1.0 eq., 0.42 mmol), 4-fluoro-2-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-2(1H)-il)-6-(4,4,5,5-tetra-metil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil acetato 115m (405 mg, 2.0 eq., 0.84 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (33 mg, 0.10 eq., 0.040 mmol), K_3PO_4 (178 mg, 2.0 eq., 0.84 mmol), acetato de sodio (69 mg, 2.0 eq., 0.84 mmol), acetonitrilo (20 ml), y agua (0.1 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 90°C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 50:1 de diclorometano/etanol para proporcionar 125f (90 mg, 29%) como un sólido amarillo. MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 724.3.

Ejemplo 125 2-(3-(5-(5-(2,2-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil)-3,4,6,7,8,9-hexahidropirazino[1,2-a]indol-1(2H)-ona 125

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 50 ml equipado con

un agitador magnético se cargó con 125f (85 mg, 1 eq., 0.11 mmol), hidróxido de litio (14 mg, 5 eq., 0.55 mmol), i-propanol (3 ml), THF (3 ml) y agua (2 ml). La mezcla se agitó a 30°C durante 1 hora. Después se filtró y el residuo se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 125 (43 mg, 57%). MS: [M+H]⁺ 682.4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.62 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.94 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.41-7.39 (m, 2H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.23-7.17 (m, 2H), 6.52 (s, 1H), 4.86 (brs, 1H), 4.54 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.42 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.17-4.11 (m, 3H), 3.89-3.86 (m, 1H), 3.58 (m, 3H), 3.39-3.36 (m, 1H), 3.08-2.98 (m, 2H), 2.63-2.56 (m, 2H), 2.46 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.33-2.12 (m, 4H), 1.80-1.67 (m, 4H), 0.96 (s, 6H).

Ejemplo 126a 2-(5-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 126a



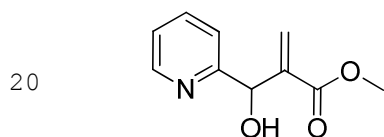
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml se cargó con 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-2(1H)-il)bencil acetato 101h (347 mg, 0.80 mmol), 3-(5-((2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 121g (792 mg, 1.6 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (32.7 mg, 0.040 mmol), K₃PO₄ (340.0 mg, 1.6 mmol), trihidrato de acetato de sodio (217.6 mg, 1.6 mmol), agua (0.5 ml), y acetonitrilo (50 ml). El sistema se evacuó y se llenó de nuevo con N₂. La mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 25:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 126a (200

mg, 34.6%) como un sólido café amarillento. MS: [M+H]⁺ 724.5.

Ejemplo 126 2-[3-[5-[[5-[(2S,5R)-2,5-dimetil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-1-metil-6-oxo-3-piridil]-5-fluoro-2-(hidroximetil)fenil]-3,4,6,7,8,9-hexahidropirido[3,4-b]indolizin-1-ona 126

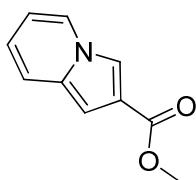
Una mezcla de 126a (150 mg, 0.20 mmol) e hidróxido de litio (72 mg, 3.0 mmol) en i-propanol/THF (5:3, 8.0 ml) y agua (2.0 ml) se agitó a 30°C durante 1 hora. La mezcla se evaporó bajo presión reducida y el residuo se extrajo con etil acetato (2 X 20 ml). El extracto combinado de etil acetato se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC de preparación para proporcionar 126 (45 mg, 33 %) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 682.9. ¹H NMR (500 MHz, CHCl₃) δ 8.60 (dd, J = 2, 5 Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.37-7.35 (m, 1H), 7.14-7.12 (m, 1H), 6.96-6.94 (m, 1H), 6.82-6.80 (m, 1H), 6.31 (s, 1H), 4.77-4.71 (m, 2H), 4.67-4.62 (m, 2H), 4.58-4.55 (m, 1H), 4.41-4.40 (m, 1H), 4.29-4.25 (m, 1H), 4.13-4.09 (m, 1H), 3.91-3.80 (m, 3H), 3.77-3.74 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.18 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 3.06-3.01 (m, 1H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.83 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.06-2.01 (m, 2H), 1.97-1.93 (m, 1H), 1.88-1.87 (m, 2H), 0.91-0.89 (m, 6H).

Ejemplo 127a metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato 127a



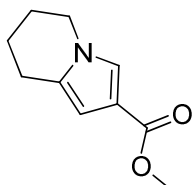
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml se cargó con cloroformo (100 ml), picolinaldehído (10.7 g, 0.10 mol), metil acrilato (8.60 g, 0.10 mol), y 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (0.560 g, 5.00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Después de este tiempo la reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 3:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 127a como un aceite amarillo oscuro (11.6 g, 60%). MS-ESI: (M+H)⁺ 194.2. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.42 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22-7.20 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 3.74 (s, 3H).

Ejemplo 127b metil indolicina-2-carboxilato 127b



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 250 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con anhídrido acético (80 ml) y 127a (6.68 g, 34.6 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo bajo nitrógeno durante 4 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vació sobre la mezcla de hielo (100 g) y solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (200 ml), y se agitó durante 1 hora. La solución resultante se neutralizó con bicarbonato de sodio saturado acuoso y se extrajo con cloruro de metileno (3 × 200 ml). El extracto orgánico combinado se secó sobre sulfato de sodio y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 10:1 de éter de petróleo/etil acetato (10:1) para proporcionar 127b como un sólido blanco (2.1 g, 35%). MS-ESI: (M+H)⁺ 176.2. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.86-7.84 (m, 1H), 7.79 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.36-7.34 (m, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.70-6.66 (m, 1H), 6.55-6.51 (m, 1H), 3.88 (s, 3H).

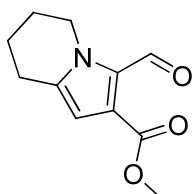
Ejemplo 127c metil 5,6,7,8-tetrahidroindolicina-2-carboxilato 127c



Un matraz de fondo redondo de 250 ml se purgó con nitrógeno y se cargó con 127b (2.0 g, 11.4 mmol), paladio sobre carbono al 10% (50% en húmedo, 200 mg), y metanol (50 ml). Se evacuó, se cargó con gas de hidrógeno, y se agitó bajo 5 atmósferas de hidrógeno a temperatura ambiente durante 8 horas. El hidrógeno se evacuó después y se cargó nitrógeno en el matraz. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un parche de CELITE® y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 127c como un sólido blanco (1.1 g, 81%). MS-ESI: [M+H]⁺ 180.3. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.25 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 3.93 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.67 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.87-1.83 (m, 2H), 1.75-1.70 (m, 2H).

Ejemplo 127d metil 3-formil-5,6,7,8-tetrahidroindolicina-2-carboxilato

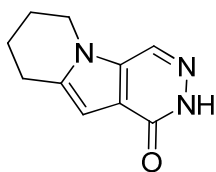
127d



Un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un agitador magnético se purgó con nitrógeno y se cargó con dicloroetano anhidro (20 ml) y DMF anhidro (0.70 ml, 9.0 mmol). A la mezcla enfriada a 0°C se agregó oxicloruro de fósforo (0.70 ml, 7.3 mmol) durante un período de 2 minutos, mientras se mantuvo la temperatura de reacción entre 0 y 10°C. El baño de enfriamiento se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se agregó una solución de metil 5,6,7,8-tetrahidroindolicina-2-carboxilato (127c) (1.0 g, 5.6 mmol) en acetonitrilo (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, se concentró bajo presión reducida. El residuo oleoso se absorbió con NaHCO₃ saturado acuoso (20 ml) y se extrajo con etil acetato (3 x 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 1:5 de etil acetato/éter de petróleo para proporcionar 127d como un sólido blanco (703 mg, 58%). MS-ESI: (M+H)⁺ 208.3. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10.14 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.27 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.78 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.94-1.85 (m, 2H), 1.78-1.69 (m, 2H).

Ejemplo 127e 6,7,8,9-tetrahidropiridazino[4,5-b]indolizin-1(2H)-ona

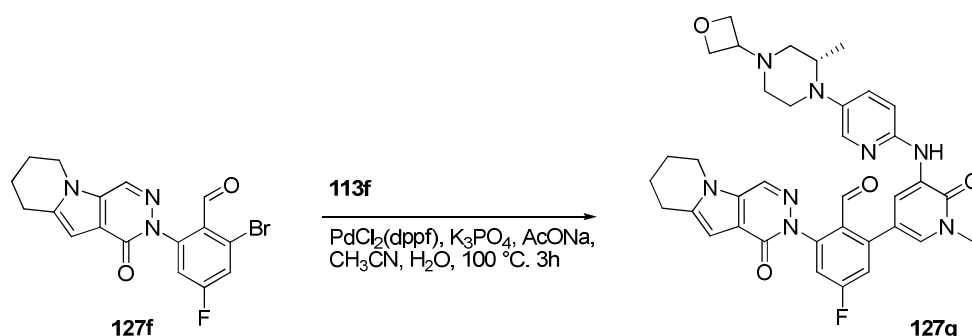
127e



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un condensador de reflujo se cargó con metil 3-formil-5,6,7,8-tetrahidroindolicina-2-carboxilato (127d) (600 mg, 2.9 mmol) e hidróxido de hidrazinio (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 4 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró para proporcionar 127e como un sólido amarillo (413 mg, 75%). MS-ESI: (M+H)⁺ 190.1. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.17 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 6.33 (s, 1H),

4.16 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.88 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.00-1.96 (m, 2H), 1.84-1.79 (m, 2H).

Ejemplo 127f 2-bromo-4-fluoro-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropiridazino[4,5-b]indolizin-2(1H)-il)benzaldehído 127f



Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 127e (450 mg, 2.4 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído (2.0 g, 7.2 mmol), carbonato de cesio (1.6 g, 4.8 mmol), y 1,4-dioxano (50 ml). Después de burbujear nitrógeno a través de la mezcla resultante durante 10 minutos, se agregó yoduro de cobre(I) (450 mg, 2.4 mmol) y 4,7-dimetoxi-1,10-fenantrolina (571 mg, 2.4 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 12 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se dividió entre cloruro de metileno (40 ml) y agua (40 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con cloruro de metileno (3 X 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. El agente de secado se retiró mediante filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 1:2 de etil acetato/éter de petróleo para proporcionar 127f como un sólido café (251 mg, 31%). MS-ESI: (M+H)+ 390.0.

15

20

25

Ejemplo 127g 4-fluoro-2-(1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(1-oxo-6,7,8,9-tetrahidropiridazino[4,5-b]indolizin-2(1H)-il)benzaldehído 127g

Un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 127f (125.0 mg, 0.32 mmol), 1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 113f (155.0 mg, 0.32 mmol), acetato de sodio (53.0 mg, 0.64 mmol), K₃PO₄ (135.7.0 mg, 0.64 mmol), PdCl₂(dppf) (50.0

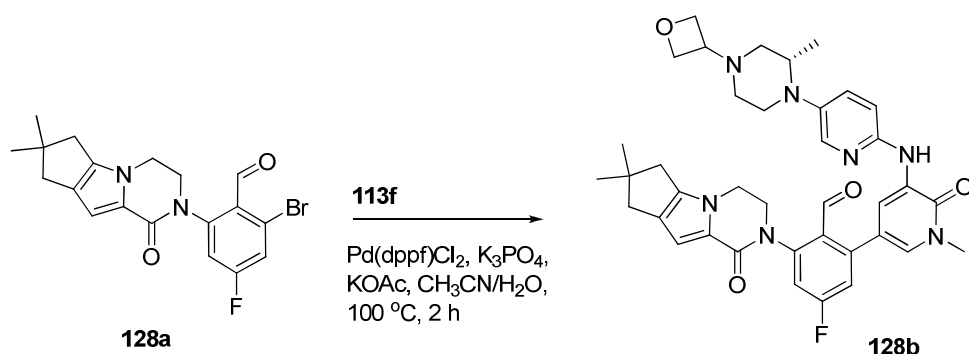
30

mg, 0.06 mmol), acetonitrilo (25 ml), y agua (1 ml). El sistema se sometió a 3 ciclos de lavado de vacío/argón y se calentó a 100°C durante 3 horas. Después se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de cloruro de metileno/metanol para proporcionar el compuesto 127g (108 mg, 51%) como un sólido café. MS: [M+H]⁺ 665.4.

Ejemplo 127 2-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-6,7,8,9-tetrahidropiridazino[4,5-b]indolizina-1-ona 127

Una solución de 127g (100.0 mg, 0.15 mmol) en metanol (20 ml) se agregó NaBH₄ (17.0 mg, 0.45 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después se templó con agua (1 ml) y la mezcla se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 127 (56 mg, rendimiento 56%) como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺ 667.4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.58 (d, J = 2.0, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.85 (d, J = 2.5, 1H), 7.39 (d, J = 2.0, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 7.25-7.22 (m, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.41-3.36 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.96-2.92 (m, 3H), 2.54-2.50 (m, 1H), 2.35-2.28 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 2.04-2.00 (m, 2H), 1.87-1.82 (m, 2H), 0.92 (d, J = 6.0, 3H).

Ejemplo 128a 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluorobenzaldehído 128a



Un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un condensador de reflujo se cargó con 4,4-dimetil-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-9-ona 103e (1.0 g, 4.90 mmol, 1.0 eq.),

2-bromo-6-chloro-4-fluorobenzaldehído (2.76 g, 9.8 mmol, 2.0 eq.), Pd2(dba)₃ (224 mg, 0.24 mmol, 0.050 eq.), Xantphos (283 mg, 0.49 mmol, 0.10 eq.), acetato de potasio (1.44 g, 14.7 mmol, 3.0 eq.), y 1,4-dioxano (50 ml). El sistema se evacuó y se llenó de nuevo con N₂. La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 5 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice eluyendo con 80:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 128a como un sólido amarillo (992 mg, 50%). MS: [M+H]⁺ 405.1

Ejemplo	128b	2-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0 ² ,6]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluoro-6-[1-metil-5-({5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}-amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]benzaldehído 128b
---------	------	--

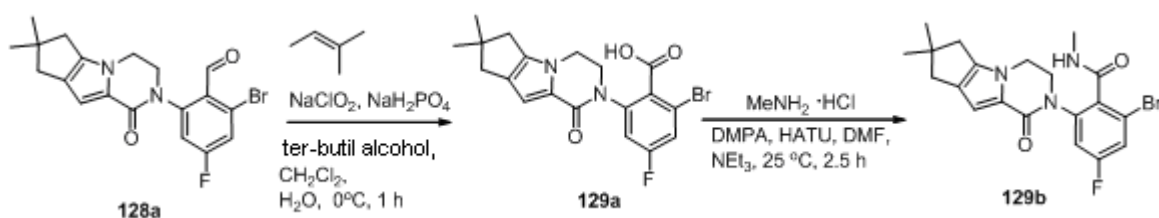
Un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 128a (303 mg, 0.75 mmol), 1-metil-3-({5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxa-borolan-2-il)-1,2-dihidropiridin-2-ona 113f (385 mg, 0.80 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (68.6 mg, 0.075 mmol), acetato de potasio (147 mg, 1.50 mmol), K₃PO₄ (327 mg, 1.50 mmol), acetonitrilo (15 ml), y agua (6 gotas). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 2 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 15:1 de etil acetato/metanol para proporcionar 128b (382 mg, 77%) como un sólido negro. MS-ESI: [M+H]⁺ 680.3.

Ejemplo	128	ácido	2-(7,7-dimetil-4-oxo-1,2,6,8-tetrahidrociclopenta[3,4]pirrolo[3,5-b]pirazin-3-il)-4-fluoro-6-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]benzoico 128
---------	-----	-------	--

A una mezcla de 128b (190 mg, 0.28 mmol), ter-butil alcohol (7 ml), y diclorometano (0.5 ml) se agregó 2-metil-2-buten-1-ol (9.0 ml, 107 mmol). Una solución acuosa (2 ml) de NaClO₂ (53 mg, 0.59 mmol) y NaH₂PO₄·2agua (135.7 mg, 0.87 mmol) se agregó por goteo a -10°C. La mezcla se agitó a -10°C durante 1 hora. Después se trató con agua (20 ml) y se extrajo con etil acetato (4 X 50 ml). El extracto orgánico combinado se secó sobre MgSO₄, se filtró, y se evaporó

bajo presión reducida. El residuo se purificó con HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 128 (33 mg, 17%) como un sólido amarillo claro. MS-ESI: $[M+H]^+$ 696.2. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 13.19-13.17 (m, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.37-7.35 (m, 2H), 7.24-7.22 (m, 3H), 6.46 (s, 1H), 4.57-4.54 (m, 2H), 4.48-4.47 (m, 1H), 4.42-4.41 (m, 1H), 4.10-4.09 (m, 2H), 3.95-3.92 (m, 1H), 3.68-3.67 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.42-3.39 (m, 2H), 3.09-3.07 (m, 1H), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.92 (s, 3H), 2.41-2.40 (m, 2H), 2.35-2.31 (m, 2H), 2.20-2.17 (m, 1H), 1.21-1.20 (m, 6H), 0.93 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H).

Ejemplo 129^a ácido 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluorobenzoico 129a



A una mezcla de 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluorobenzaldehído 128a (810 mg, 2.0 mmol), ter-butil alcohol (50 ml), y diclorometano (3 ml) se agregó 2-metil-2-buteno (22 ml, 262 mmol). Una solución acuosa (20 ml) de NaClO₂ (1.8 g, 20.0 mmol) y dihidrato de NaH₂PO₄ (2.2 g, 14.0 mmol) se agregó por goteo a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora. Después se trató con agua (30 ml) y se extrajo con etil acetato (4 × 90 ml). El extracto orgánico combinado se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 129a (930 mg, 84%) como un sólido amarillo. MS-ESI: $[M+H]^+$ 421.1.

Ejemplo 129b 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-1,10-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-2(6),7-dien-10-il}-4-fluoro-N-metilbenzamida 129b

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con un agitador magnético se cargó con DMF (8 ml), 129a (160 mg, 0.38 mmol), HATU (505 mg, 1.33 mmol), DMAP (46 mg, 0.38 mmol), y trietilamina (1.0 ml). La mezcla se calentó a 25°C durante 0.5 horas. Después se agregó MeNH₂·HCl (266 mg, 3.8 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante 2.5 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante TLC de

preparación revelando con 1:20 de metanol/diclorometano para proporcionar 129b (116 mg, 70%) como un sólido negro. MS-ESI: [M+H]⁺ 434.0.

5	Ejemplo	129	2-(7,7-dimetil-4-oxo-1,2,6,8-tetrahidrociclopenta[3,4]pirrolo[3,5-b]pirazin-3-il)-4-fluoro-N-metil-6-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]benzamida
		129	

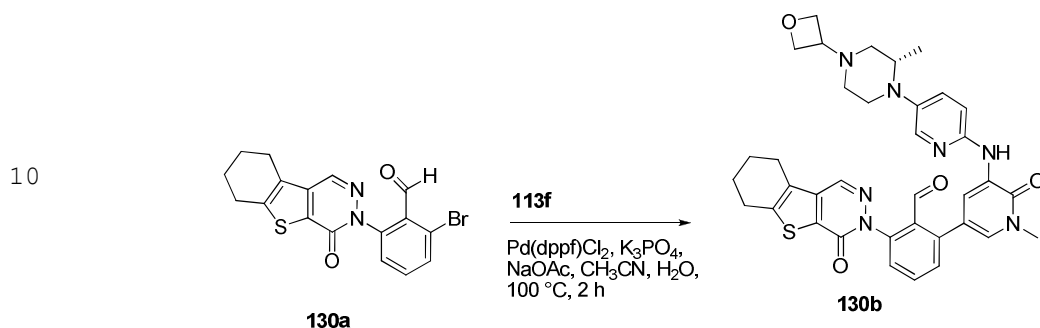
Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 129b (116 mg, 0.27 mmol), 1-metil-3-({5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2-dihidropiridin-2-ona 113f (260 mg, 0.54 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (26 mg, 0.030 mmol), acetato de potasio (53 mg, 0.54 mmol), K₃PO₄ (117 mg, 0.54 mmol), acetonitrilo (5 ml), y agua (0.50 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó con HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 129 (80 mg, 42%) como un sólido amarillo claro. MS-ESI: [M+H]⁺ 709.5. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.11 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 7.32-7.30 (m, 2H), 7.28-7.26 (m, 1H), 7.23-7.21(m, 1H), 6.47 (s, 1H), 4.58-4.54 (m, 2H), 4.48-4.46 (m, 1H), 4.43-4.41 (m, 1H), 4.05-3.91 (m, 4H), 3.67-3.66 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.41-3.38 (m, 1H), 3.10-3.08 (m, 1H), 2.97-2.94 (m, 1H), 2.55-2.54 (m, 3H), 2.48-2.47 (m, 3H), 2.40-2.39 (m, 2H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.22-2.19 (m, 1H), 1.21-1.20 (m, 6H), 0.93 (d, J = 6.5 Hz, 3H).

25	Ejemplo	130a	2-bromo-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0.2,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}benzaldehído 130a
----	---------	------	---

Un matraz de fondo redondo de un solo cuello de 25 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 1,4-dioxano (20 ml), 8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0.2,7]trideca-1(9),2(7),3-trien-6-ona 117c (618 mg, 3.0 mmol), 2,6-dibromobenzaldehído (1980 mg, 7.5 mmol), CuBr (215 mg, 1.5 mmol), sarcosina (267 mg, 3.0 mmol), y K₂CO₃ (828 mg, 6.0 mmol). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100°C durante 16 horas. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente.

Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 130a (702 mg, 60%) como un sólido amarillo. MS: [M+H]⁺ 389.0.

Ejemplo 130b 2-[1-metil-5-({5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-6-oxopiridin-3-il]-6-{6-oxo-8-tia-4,5-diazatriciclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(9),2(7),3-trien-5-il}benzaldehído 130b



Un tubo sellado equipado con un agitador magnético se cargó con 130a (160 mg, 0.40 mmol), ácido (S)-1-metil-5-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-ilborónico 113f (160 mg, 0.40 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (32 mg, 0.040 mmol), acetato de sodio (66 mg, 0.80 mmol), K₃PO₄ (170 mg, 0.80 mmol), y acetonitrilo (6 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 100 °C durante 2 horas. Después se filtró y el filtrado se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 30:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 130b (123 mg, 46%) como un sólido amarillo. LCMS: [M+H]⁺ 664.3.

Ejemplo 130 3-[2-(hidroximetil)-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-6,7,8,9-tetrahidrobenzotiofeno[2,3-d]piridazin-4-ona 130

A 0 °C, a una solución de 130b (120 mg, 0.18 mmol) en metanol (5 ml) se agregó borohidruro de sodio (20 mg, 0.54 mmol). La reacción se agitó durante 30 minutos. Después se templó con agua (1 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 130 (70 mg, 59%). LCMS: [M+H]⁺ 666.3. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.56-7.54 (m, 2H), 7.42 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 2.0, 7.0 Hz, 1H), 7.31 (d,

J = 8.0 Hz, 1H), 6.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.72-4.66 (m, 4H), 4.36 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 4.05 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.55-3.54 (m, 1H), 3.46-3.45 (m, 1H), 3.08-3.06 (m, 2H), 2.99 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.87 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.60-2.59 (m, 1H), 2.49-2.48 (m, 2H), 2.20-2.19 (m, 1H), 2.02-1.96 (m, 4H), 0.99 (d, J = 6.0 Hz, 3H).

Ejemplo 131a 3,3-dimetilciclopentanona 131a

A una suspensión de CuI (81.0 g, 420 mmol) en etil éter anhidro (500 ml) enfriada a 0°C se agregó una solución de metilitio en etil éter (430 ml, 860 mmol, 2.0M) durante un período de 30 minutos. Ver figura 15. La mezcla se agitó a 0°C durante 2 horas. A la mezcla anterior se agregó 3-metilciclopent-2-enona (33.6 g, 350 mmol) por goteo durante un período de 1 hora a 0°C. La mezcla resultante se agitó a 0°C durante otras 2 horas. Después se templó con NH₄Cl saturado (300 ml) y se filtró. El filtrado se extrajo con etil éter (2 X 200 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Mg₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se evaporó bajo presión reducida para proporcionar 131a como un aceite incoloro (28 g, 71%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 2.31 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.05 (s, 2H), 1.79 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 1.12 (s, 6H).

Ejemplo 131b 2-cloro-4,4-dimetilciclopent-1-enocarbaldehído 131b

A una solución de DMF (18.3 g, 250 mmol) en diclorometano (300 ml) enfriada a 0°C se agregó POCl₃ (40.5 g, 250 mmol) durante un período de 10 minutos. Ver figura 15. La mezcla se agitó a 20°C durante 1 hora. A la mezcla anterior se agregó 131a (28.0 g, 250 mmol) por goteo durante un período de 20 minutos. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 20 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vació en una solución de acetato de sodio (60 g) en hielo-agua (400 g). La mezcla se extrajo con diclorometano (2 X 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (2 X 200 ml), se secó sobre Mg₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se evaporó bajo presión reducida para proporcionar 131b como un aceite incoloro (33.0 g, crudo). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 2.62 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 2.38 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 1.15 (s, 6H).

Ejemplo 131c etil 5,5-dimetil-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-2-carboxilato 131c

A una solución de 131b (33.0 g, crudo) en diclorometano (400 ml) y

trietilamina (60 g, 600 mmol) se agregó etil 2-mercaptoacetato (19.2 g, 160 mmol). Ver figura 15. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 horas. Después se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en etanol (400 ml) y trietilamina (60 g, 600 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 12 horas. Se concentró de nuevo bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 40:1 de éter de petróleo/etil acetato para proporcionar 131c como un sólido amarillo (18.0 g, 32%, durante dos etapas). MS-ESI: $[M+H]^+$ 225.3. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.49 (s, 1H), 4.32 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 2.72 (s, 2H), 2.56 (s, 2H), 1.35 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.22 (s, 6H).

Ejemplo 131d ácido 5,5-dimetil-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-2-carboxílico 131d

A una solución de 131c (16.0 g, 71.0 mmol) en propan-2-ol (200 ml), tetrahidrofurano (200 ml), y agua (200 ml) se agregó hidróxido de litio (6.82 g, 284 mmol). Ver figura 15. La mezcla de reacción se calentó a 65°C durante 5 horas. Los solventes orgánicos se retiraron bajo presión reducida. El pH del residuo se ajustó a 1.0 con ácido clorhídrico (12M). El precipitado se recolectó mediante filtración y se secó in vacuo para proporcionar 131d (12.0 g, 86%) como un sólido blanco. MS-ESI: $[M+H]^+$ 196.9.

Ejemplo 131e N-ter-butil-5,5-dimetil-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-2-carboxamida 131e

Una suspensión de 131d (12.0 g, 61.0 mmol) en $SOCl_2$ (80 ml) se calentó a 65°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. Ver figura 15. El residuo se diluyó con diclorometano (20 ml), que se agregó a la solución de 2-metilpropan-2-amina (4.45 g, 61.0 mmol) y trietilamina (18.0 g, 180 mmol) en diclorometano (180 ml). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas y se diluyó con diclorometano (200 ml). Se lavó con agua (3 X 50 ml), se secó sobre Mg_2SO_4 anhidro, se filtró, y se evaporó bajo presión reducida para proporcionar 131e (15.0 g, 97%) como un sólido amarillo. MS-ESI: $[M+H]^+$ 252.0.

Ejemplo 131f N-ter-butil-3-formil-5,5-dimetil-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-2-carboxamida 131f

A una solución de 131e (1.5 g, 6.0 mmol) en THF anhidro (60 ml) se

enfrió a -70°C se agregó la solución de n-butil litio (10.0 ml, 25 mmol, 2.5 M en hexano) durante un período de cinco minutos. Ver figura 15. Se agitó a -70°C durante 6 horas. Se agregó DMF (1.3 g, 18.0 mmol) durante un período de cinco minutos y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche.

Después se templó con NH_4Cl saturado (40 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se extrajo con etil acetato (2 X 30 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Mg_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se evaporó bajo presión reducida para proporcionar 131f como un sólido amarillo (1.34 g, 80%). MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280.3.

Ejemplo 131g N-ter-butil-3-(hidrazonometil)-5,5-dimetil-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-2-carboxamida 131g

A una solución de hidrazina acuosa al 85% (10 ml) en THF (180 ml) se agregó 131f (5.6 g, 20.0 mmol) en THF anhidro (20 ml) durante un período de 5 minutos. Ver figura 15. Se agitó a 20°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proporcionar 131g como un sólido negro (6.0 g, rendimiento: 95%, pureza: 95%). MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 294.0.

Ejemplo 131h 4,4-dimetil-7-tia-10,11-diazatriciclo[6.4.0.0²,6]dodeca-1(8),2(6),11-trien-9-ona 131h

Una solución de 131g (3.8 g, 13.0 mmol) en H_2SO_4 a 30% (100 ml) se calentó a reflujo durante 16 horas. Ver figura 15. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con diclorometano (3 x 200 ml). La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice eluyendo con 100:1 de diclorometano/metanol para proporcionar 131h como un sólido amarillo (1.72 g, 60%). MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 221.0.

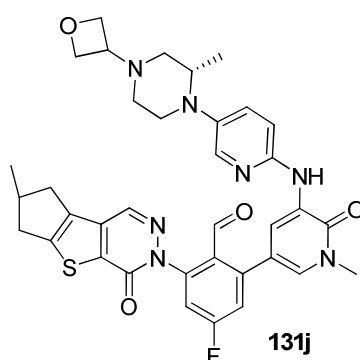
Ejemplo 131i 2-bromo-6-{4,4-dimetil-9-oxo-7-tia-10,11-diazatriciclo[6.4.0.0²,6]dodeca-1(8),2(6),11-trien-10-il}-4-fluorobenzaldehído 131i

Un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 131h (330 mg, 1.5 mmol), 2,6-dibromo-4-fluorobenzaldehído (1.26 g, 4.5 mmol), CuBr (113 mg, 0.8 mmol), sarcosina (142 mg, 1.6 mmol), K_2CO_3 (420 mg, 3.0 mmol), y dioxano (20 ml). Ver figura 15. Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a 95°C durante 15 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El

filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice 5:1 eluyendo con éter de petróleo/etil acetato para 131i como un sólido blanco (380 mg, 60%). MS-ESI: [M+H]⁺ 420.6.

5 Ejemplo 131j 2-{4,4-dimetil-9-oxo-7-tia-10,11-diazatriciclo[6.4.0.0^{2,6}]dodeca-1(8),2(6),11-trien-10-il}-4-fluoro-6-[1-metil-5-({5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]piridin-2-il}amino)-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il]benzaldehído 131j

10



15

Un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con un agitador magnético y un condensador de reflujo se cargó con 131i (421 mg, 1.0 mmol), (S)-1-metil-3-(5-(2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)piridin-2-ilamino)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2(1H)-ona 113f (580 mg, 1.2 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (59 mg, 0.080 mmol), K₃PO₄.trihidrato (360 mg, 1.6 mmol), agua (6
20 gotas), y tetrahidrofurano (20 ml). Después de tres ciclos de lavado de vacío/argón, la mezcla se calentó a reflujo durante 6 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo se lavó con 1:1 éter de petróleo/etil acetato (20 ml) para proporcionar 131j como un sólido blanco (556 mg, 80%). MS-ESI: [M+H]⁺ 696.3.

25

Ejemplo 131 3-[5-fluoro-2-(hidroximetil)-3-[1-metil-5-[[5-[(2S)-2-metil-4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il]-2-piridil]amino]-6-oxo-3-piridil]fenil]-7,7-dimetil-6,8-dihidrociclopenta[3,4]tieno[1,3-d]piridazin-4-ona 131

30

A una solución de 131j (520 mg, 0.75 mmol) en metanol (10 ml) se agregó borohidruro de sodio (110 mg, 3.0 mmol) a 20°C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se templó con agua (3 ml). Después se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó con HPLC de preparación en fase inversa para proporcionar 131 (340 mg, 65%). MS-ESI: [M+H]⁺ 698.3. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.55 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.85 (d,

J = 2.5 Hz, 1H), 7.40-7.30 (m, 4H), 7.23 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 2H), 4.46 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.30-4.29 (m, 2H), 3.68-3.65 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.40-3.38 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.95-2.94 (m, 1H), 2.91-2.89 (m, 2H), 2.80-2.78 (m, 2H), 2.54-2.52 (m, 1H), 2.34-2.30 (m, 2H), 2.20-2.16 (m, 1H), 1.27 (s, 6H), 0.93 (d, J = 6.5 Hz, 3H).

Ejemplo 901 Análisis bioquímico de Btk

Un procedimiento generalizado para un análisis bioquímico estándar de Btk cinasa que puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I es como sigue. Se prepara una mezcla maestra menos la enzima Btk que contiene amortiguador de cinasa de señalización de célula IX (25 mM de Tris-HCl, pH 7.5, 5 mM beta-glicerofosfato, 2 mM de ditioneitol, 0.1 mM de Na₃VO₄, 10 mM MgCl₂), 0.5 µM de sustrato 2 de péptido biotinilado Promega PTK y BSA de 0.01%. Se prepara una mezcla maestra más enzima Btk conteniendo amortiguador de cinasa de señalización de célula IX, 0.5 µM de sustrato 2 de péptido biotinilado PTK, BSA al 0.01% y 100 ng/pozo (0.06 mU/pozo) de enzima Btk. La enzima Btk se prepara como sigue: Btk humano de tipo silvestre de longitud total (número de acceso NM-000061) con un V5 de terminal C y una etiqueta 6x His se subclonaron en un vector pFastBac para producir baculovirus transportadores de esta Btk etiquetada con epítipo. La generación del baculovirus se realiza en base a las instrucciones de Invitrogen detalladas en su protocolo publicado "Bac-to-Bac Baculovirus Expression Systems" (Cat. Nos. 10359-016 y 10608-016). Se utiliza un virus de 6 pasajes para infectar células Sf9 para sobre-expresar la proteína Btk recombinante. La proteína Btk se purifica entonces a homogeneidad utilizando una columna Ni-NTA. La pureza de la preparación de proteína final es mayor que 95% en base al manchado Sypro-Ruby sensitivo. Una solución de 200 µM de ATP se prepara en agua y se ajusta a un pH de 7.4 con 1N de NaOH. Una cantidad de 1.25 µl de los compuestos en DMSO al 5% se transfiere a una placa de poliestireno Costar de ½ área de 96 pozos. Los compuestos se muestran individualmente y con una curva de respuesta a la dosis de 11 puntos (la concentración inicial es de 10 µM; dilución de 1:2). Una cantidad de 18.75 µl de la mezcla maestra menos la enzima (como control negativo) y la mezcla maestra más la enzima se transfiere a los pozos apropiados en una placa de poliestireno Costar de ½ área de 96 pozos. 5 µl de 200 µM de ATP se agrega a esa mezcla

en la placa de poliestireno Costar de ½ área de 96 pozos para una concentración final de ATP de 40 µM. La reacción se deja incubar durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se detiene con amortiguador de detección Perkin Elmer IX conteniendo 30 mM de EDTA, 20 nM de SA-APC, y 1 nM de PT66 Ab. La placa se lee utilizando fluorescencia disuelta por tiempo con un Perkin Elmer Envision utilizando un filtro de excitación de 330 nm, un filtro de emisión de 665 nm y un 2° filtro de emisión de 615 nm. Los valores IC₅₀ se calculan subsecuentemente. Alternativamente, el análisis Lanthascreen puede utilizarse para evaluar la actividad de Btk a través de la cuantificación de su producto de péptido fosforilado.

La FRET (transferencia de energía de resonancia por fluorescencia) que se presenta entre la fluoresceína en el producto de péptido y el terbio en el anticuerpo de detección disminuye con la adición de inhibidores de Btk que reducen la fosforilación del péptido. En un volumen de reacción final de 25 ul, se incuba Btk (h) (reacción 0.1 ng/25 ul) con 50 mM de Hepes, pH 7.5, 10 mM de MgCl₂, 2 mM de MnCl₂, 2 mM de DTT, 0.2 mM de NaVO₄, BSA al 0.01% y 0.4 uM de fluoresceína poly-GAT. La reacción se inicia por medio de la adición de ATP a 25 uM (Km de ATP). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene por la adición de una concentración final de 2 nM de anticuerpo de detección Tb-PY20 en 60 mM de EDTA durante 30 minutos a temperatura ambiente. La detección se determina en un Perkin Elmer Envision con 340 nM de excitación y una emisión a 495 nm y 520 nm. Los valores IC₅₀ de inhibición de Btk ejemplares se encuentran en las Tablas 1, 2 y 3.

Ejemplo 902 Análisis de Btk en Células Ramos

Otro procedimiento generalizado para un análisis estándar de Btk cinasa celular que puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I es como sigue. Las células Ramos se incuban a una densidad de 0.5 c 10⁷ células/ml en presencia del compuesto de prueba durante 1 hora a 37°C. Después las células se estimulan incubado con 10 µg/ml de IgM F(ab)₂ anti-humano durante 5 minutos a 37°C. las células se granulan, se lisan y se lleva a cabo un análisis de proteína en el lisado despejado. Cantidades iguales de proteína de cada muestra se somete a SDS-PAGE e inmunoanálisis western ya sea con anticuerpo anti-fosfoBtk(Tyr223) (Cell Signalling Technology #3531; Epitomics, cat. #2207-1) o anticuerpo fosfoBtk(Tyr551) (BD Transduction Labs

#558034) para evaluar la autofosforilación de Btk o un anticuerpo anti-Btk (BD Transduction Labs #611116) para controlar las cantidades totales de Btk en cada lisado.

Ejemplo 903 Análisis de Proliferación de células B

5 Un procedimiento generalizado para un análisis celular estándar de proliferación de células B que puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I es como sigue. Las células B se purifican a partir de bazo de ratones Balb/c de 8 a 16 semanas de edad utilizando un equipo de aislamiento de células B (Mitenyi Biotech, Cat # 130-090-862). Los compuestos de prueba se diluyen en
10 DMSO al 0.25% y se incuban con 2.5×10^5 células B esplénicas de ratón purificadas durante 30 minutos antes de la adición de 10 µg/ml de un anticuerpo IgM anti-ratón (Southern Biotechnology Associates Cat # 1022-01) en un volumen final de 100 µl. Después de 24 horas de incubación, se agrega 1 µCi³H-timidina y las placas se incuban 36 horas adicionales antes de cosecharse utilizando el
15 protocolo del fabricante para el sistema de análisis de absorción de timidina SPA[³H] (Amersham Biosciences #RPNQ 0130). La fluorescencia a base de perlas SPA se cuenta en un contador microbeta (Wallace Triplex 1450, Perkin Elmer).

Ejemplo 904 Análisis de Proliferación de Células T

20 Un procedimiento generalizado para un análisis celular estándar de proliferación de célula T que puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I es como sigue. Las células T se purifican a partir de bazo de ratones Balb/c de 8 a 16 semanas de edad utilizando un equipo de aislamiento de célula T Pan (Mitenyi Biotech, Cat # 130-090-861). Los compuestos de prueba se diluyen
25 en DMSO al 0.25% y se incuban con 2.5×10^5 células T esplénicas de ratón purificadas en un volumen final de 100 µl en placas planas de fondo transparente pre-recubiertas durante 90 minutos a 37°C con 10 µg/ml de cada uno de los anticuerpos anti-CD3 (BD #553057) y anti-CD28 (BD # 553294). Después de 24 horas de incubación, se agrega 1 µCi³H-timidina y las placas se incuban 36 horas
30 adicionales antes de cosecharse utilizando el protocolo del fabricante para el sistema de análisis de absorción de timidina SPA[³H] (Amersham Biosciences #RPNQ 0130). La fluorescencia a base de perlas SPA se cuenta en un contador microbeta (Wallace Triplex 1450, Perkin Elmer).

Ejemplo 905 Análisis de Inhibición de CD86

Un procedimiento generalizado para un análisis estándar para la inhibición de la actividad de células B que puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I es como sigue. Se purifican linfocitos totales de ratón a partir de bazo de ratones Balb/c de 8 a 16 semanas de edad mediante lisis de células de glóbulos rojos (BD Pharmingen # 555899). Los compuestos de prueba se diluyen en DMSO al 0.5% y se incuban con 1.25×10^5 esplenocitos en un volumen final de 200 μ l en placas planas de fondo transparente (Falcon 353072) durante 60 minutos a 37°C. Después las células se estimulan con la adición de 15 μ g/ml de IgM (Jackson ImmunoResearch 115-006-020) y se incuban durante 24 horas a 37°C, CO₂ al 5%. Después de 24 horas de incubación, las células se transfieren a placas cónicas de fondo transparente de 96 pozos y se granulan mediante centrifugación a 1200 c g c 5 minutos. Las células se pre-bloquean mediante CD16/CD32 (BD Pharmingen #553142), seguido por un triple manchado con CD19-FITC (BD Pharmingen # 553785), CD86-PE (BD Pharmingen # 553692) y 7AAD (BD Pharmingen # 51-68981E). Las células se clasifican en un BD FACSCalibur y se depuran en la población CD19⁺/7AAD⁻. Los niveles de la expresión de superficie de CD86 en la población depurada se mide contra la concentración del compuesto de prueba.

Ejemplo 906 Análisis de supervivencia de Células B-ALL

Lo siguiente es el procedimiento para un estudio de supervivencia celular estándar B-ALL (leucemia linfoblástica aguda) utilizando una lectura XTT para medir el número de células viables. Este análisis puede utilizarse para probar los compuestos de la Fórmula I por su capacidad para inhibir la supervivencia de células B-ALL en cultivo. Una línea humana de leucemia linfoblástica aguda de células B que puede utilizarse es SUP-B15, una línea humana Pre-célula-B ALL disponible del ATCC.

Las células SUP-B15 pre-B-ALL se colocan en placas de microtitulación múltiples de 96 pozos en 100 μ l de medio de Iscove + FBS al 20% a una concentración de 5×10^5 células/ml. Después se agregan los compuestos de prueba en una concentración final de DMSO al 0.4%. Las células se incuban a 37°C con CO₂ al 5% durante hasta 3 días. Después de 3 días las células se dividen a 1:3 en placas nuevas de 96 pozos conteniendo el compuesto de prueba

y se dejan crecer hasta 3 días adicionales. Después de cada período de 24 horas, se agregan 50 µl de una solución de XTT a una de las placas de 96 pozos replicadas y se toman las lecturas de absorbencia a 2, 4 y 20 horas siguiendo las instrucciones del fabricante. La lectura tomada con un OD para células tratadas solo con DMSO dentro del rango lineal del análisis (0.5 a 1.5) se toma entonces y se mide el porcentaje de las células viables en los pozos tratados con compuesto contra las células solo tratadas con DMSO.

Ejemplo 907 Análisis de Sangre Completa de CD69

Se obtiene sangre humana de voluntarios sanos, con las siguientes restricciones: 1 semana sin fármacos, no fumadores. La sangre (aproximadamente 20 mililitros para probar 8 compuestos) se recolecta mediante punción en vena en tubos Vacutainer® (Becton, Dickinson and Co.) con heparina de sodio.

Las soluciones de los compuestos de la Fórmula I a 10 mM en DMSO se diluyen a 1:10 en DMSO al 100%, después se diluyen mediante diluciones en series de tres veces en DMSO al 100% para una curva de respuesta a la dosis de diez puntos. Los compuestos se diluyen adicionalmente a 1:10 en PBS y después se agrega un alícuota de 5.5 µl de cada compuesto en duplicado a una placa de 96 pozos de 2 ml; se agregan 5.5 µl de DMSO al 10% en PBS como pozos de control y sin estímulo. Se agrega la sangre completa humana –HWP (100 µl) a cada pozo. Después de mezclar las placas se incuban a 37°C, CO₂ al 5%, 100% de humedad durante 30 minutos. IgM anti-humano F(ab')₂ de cabra (10 µl de una solución de 500 µg/ml, 50 µg/ml finales) se agrega a cada pozo (excepto a los pozos sin estímulo) con mezclado y las placas se incuban durante 20 horas adicionales. Al final de la incubación de 20 horas, las muestras se incuban con anticuerpos marcados con fluorescencia durante 30 minutos, a 37°C, CO₂ al 5%, 100% de humedad. Incluyendo el control inducido, no manchadas, y manchas únicas para ajustes de compensación y configuraciones de voltaje inicial. Después se lisan las muestras con PharM Lyse™ (BD Biosciences Pharmingen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las muestras se transfieren después a una placa de 96 pozos adecuadas para correr en el sistema de 96 pozos BD Biosciences HTS en la máquina LSR II. Los datos adquiridos y los valores de intensidad de fluorescencia media se obtuvieron utilizando el software

BD Biosciences DIVA. Los resultados se analizaron mediante el software de análisis FACS (Flow Jo). Las concentraciones inhibitorias (IC50, IC70, IC90, etc.) para los compuestos de prueba se definen como la concentración que disminuye, por ejemplo al 50%, el porcentaje positivo de las células CD69 que también son CD20 positivas estimuladas por anti-IgM (promedio de 8 pozos de control, después de la sustracción del promedio de 8 pozos para el antecedente sin estímulo). Los valores IC70 se calculan mediante Prism versión 5, utilizando un ajuste de curva de regresión no lineal y se muestran en las Tablas 1 y 2.

Ejemplo 908 Análisis de Proliferación Celular in vitro

La eficacia de los compuestos de la Fórmula I se mide por medio de un análisis de proliferación celular que emplea el siguiente protocolo (Mendoza et al (2002) Cancer Res 62:5485-5488). El análisis luminiscente de viabilidad celular CellTiter-Glo®, que incluye los reactivos y el protocolo se encuentra comercialmente disponible (Promega Corp. Madison, WI, Technical Bulletin TB288). El análisis evalúa la capacidad de los compuestos para entrar a las células e inhibir la proliferación celular. El principio del análisis se basa en la determinación del número de células viables presente al cuantificar el ATP presente en un análisis homogéneo en donde la adición del reactivo Cell-Titer Glo da como resultado la lisis y la generación de una señal luminiscente a través de la reacción de luciferasa. La señal luminiscente es proporcional a la cantidad del ATP presente.

Un panel de líneas celulares de linfoma de células B (BJAB, SUDHL-4, TMD8, OCI-Ly10, OCI-Ly3, WSU-DLCL2) se coloca en placas en una placa de 384 pozos en un medio de crecimiento normal, y se agregan inhibidores de Btk diluidos serialmente o DMSO solo a cada pozo. La viabilidad celular se evalúa después de 96 horas de incubación mediante CellTiter Glo® (Promega). Los datos pueden presentarse como la viabilidad celular relativa en células tratadas por el inhibidor de BTK en relación con células de control tratadas con DMSO. Los puntos de datos son la media de 4 réplicas en cada nivel de dosis. Las barras de error representan el SD a partir de la media.

Procedimiento: Día 1 – placas de siembra celular (placas TC negras, de fondo transparente, micro transparentes de 384 pozos con tapa de Falcon #353962), células cosechadas, células sembradas a 1000 células por 54 µl por

pozo en placas celulares de 384 pozos para análisis de 3 días. Medio de cultivo celular: RPMI o DMEM alto en glucosa, suero fetal bovino al 10%, 2 mM de L-glutamina, P/S. Incubadas O/N a 37°C, CO₂ al 5%.

Día 2 – Agregar el fármaco a las células, dilución del compuesto, placas con DMSO (serial a 1:2 para 9 puntos), agregar 20 µl de los compuestos a 10 mM en la 2ª columna de la placa de 96 pozos. Llevar a cabo la serie a 1:2 a través de la placa (10 µl + 20 µl, DMSO al 100%) para un total de 9 puntos utilizando Precision. Placas de medio, placas de polipropileno de fondo cónico de 96 pozos de Nunc (cat # 249946) (dilución 1:50). Agregar 147 µl del medio en todos los pozos. Transferir 3 µl de DMSO + compuesto de cada pozo en la placa con DMSO a cada pozo correspondiente en la placa de medio utilizando Rapidplate.

Adición del fármaco a las células, placa celular (dilución 1_10), agregar 6 µl del medio + compuesto directamente a las células (54 µl del medio ya en las células). Incubar 3 días a 37°C, VO₂ al 5% en un incubador que no se abrirá frecuentemente.

Día 5 – Revelado de las placas, amortiguador Titer Glo de célula congelada a temperatura ambiente. Retirar las placas celulares de los 37°C y equilibrar a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Agregar el amortiguador celular Titer Glo al sustrato celular Titer Glo (de botella a botella). Agregar 30 µl del reactivo celular Titer Glo (Promega cat # G7572) a cada pozo de células. Colocar en un agitador de placa durante aproximadamente 30 minutos. Leer la luminiscencia en el lector de placa Analyst HT (medio segundo por pozo).

Análisis de viabilidad celular y análisis de combinación. Las células se sembraron de 1000 a 2000 células/pozo en placas de 384 pozos durante 16 horas. en el día dos, se realiza nueve diluciones seriales de 1:2 del compuesto en DMSO en una placa de 96 pozos. Los compuestos se diluyen además en medio de crecimiento utilizando un robot Rapidplate (Zymark Corp. Hopkinton, MA). Los compuestos diluidos se agregan entonces a pozos en cuadruplicado en placas celulares de 384 pozos y se incuban a 37°C y CO₂ al 5%. Después de 4 días, se miden los números relativos de las células viables mediante luminiscencia utilizando Cell-Titer Glo (Promega) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se leen en un lector multi-etiquetas Wallac (Perkin Elmer, Foster City). Los

valores EC50 se calculan utilizando el software Prism® 4.0 (Graphpad, San Diego). Los compuestos de la Fórmula I y los agentes quimioterapéuticos se agregan simultáneamente o por separado a las 4 horas (uno después del otro) en todos los análisis.

5 Un análisis ejemplar adicional de proliferación celular in vitro incluye las siguientes etapas:

1. Un alícuota de 100 µl del cultivo celular conteniendo aproximadamente 10^4 células en medio se deposita en cada pozo de una placa de paredes opacas de 384 pozos.

10 2. Los pozos de control se preparan conteniendo el medio y sin células.

3. El compuesto se agrega a los pozos experimentales y se incuba durante 3 a 5 días.

15 4. Las placas se equilibran a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos.

5. Se agrega un volumen del reactivo Cell Titer Glo igual al volumen del medio de cultivo celular presente en cada pozo.

6. El contenido se mezcla durante 2 minutos en un agitador orbital para inducir la lisis celular.

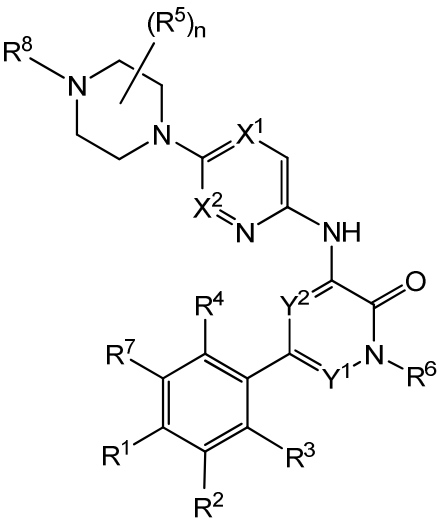
20 7. La placa se incuba a temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilizar la señal de luminiscencia.

8. La luminiscencia se registra y se reporta en gráficas como RLU = unidades de luminiscencia relativa.

25 Aunque la invención anterior se ha descrito en algún detalle a modo de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad y entendimiento, las descripciones y ejemplos no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención. Por consiguiente, debe considerarse que todas las modificaciones y equivalentes adecuados caen dentro del alcance de la invención como se define por medio de las siguientes reivindicaciones. Las descripciones de toda la
30 literatura de patente y científica citadas en la presente se incorporan expresamente en su totalidad mediante la referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de la Fórmula I:



o sus estereoisómeros, tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente de H, F, Cl, -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, -OH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCH₂CH₂OH, y alquilo C₁-C₃;

R⁴ se selecciona de H, F, Cl, CN, -CH₂OH, -CH(CH₃)OH, -C(CH₃)₂OH, -CH(CF₃)OH, -CH₂F, -CHF₂, -CH₂CHF₂, -CF₃, -C(O)NH₂, -C(O)NHCH₃, -C(O)N(CH₃)₂, -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, -NHC(O)CH₃, -OH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCH₂CH₂OH, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, 1-hidroxiciclopropilo, imidazolilo, pirazolilo, 3-hidroxi-oxetan-3-ilo, oxetan-3-ilo, y azetidin-1-ilo;

R⁵ se selecciona de -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂OH, -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -CN, y -CH₂CH₂OH;

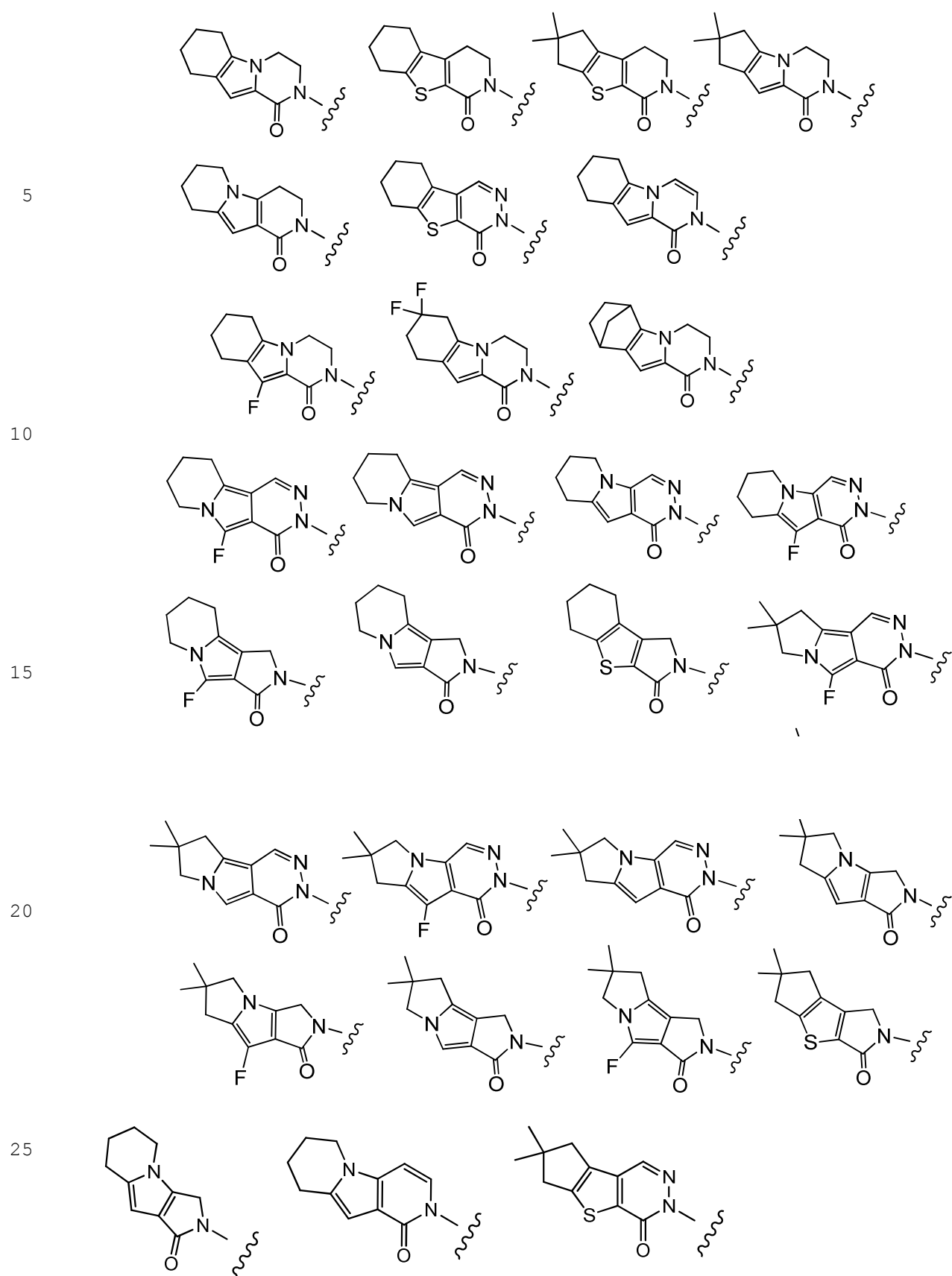
o dos grupos R⁵ forman un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3-, 4-, 5-, o 6 miembros;

o un grupo R⁵ y un grupo R⁸ forman un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3-, 4-, 5-, o 6 miembros;

n es 1, 2, 3, o 4

R⁶ se selecciona de H, F, -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH₂OH, -NH₂, y -OH;

R⁷ se selecciona de las estructuras:



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión;

R^8 se selecciona de $-CH_3$, $-S(O)_2CH_3$, ciclopropilo, azetidin-3-ilo, oxetan-3-ilo, y morfolin-4-ilo;

X^1 es CR^9 o N, en donde R^9 se selecciona de H, F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2OH$, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, y -

OCH₂CH₂OH;

X² es CR¹⁰ o N, en donde R¹⁰ se selecciona de H, -CH₃, -CH₂CH₃, y -CH₂CH₂OH; y

Y¹ y Y² se seleccionan independientemente de CH y N, en donde Y¹ y Y² no son cada uno N.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en donde X es CR⁹, y R⁹ es H.

3. El compuesto de la reivindicación 1 en donde X es N.

4. El compuesto de la reivindicación 1 en donde R⁴ es -CH₂OH.

5. El compuesto de la reivindicación 4 en donde R² es F.

6. El compuesto de la reivindicación 5 en donde R¹ y R³ son H.

7. El compuesto de la reivindicación 1 en donde R⁶ es CH₃.

8. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de la Tabla 1.

9. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de la Tabla 2.

10. Una composición farmacéutica comprendida de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo, deslizante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende además un agente terapéutico.

12. Un proceso para producir una composición farmacéutica que comprende combinar un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Un método para tratar una enfermedad o trastorno que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica de la reivindicación 10 a un paciente con una enfermedad o trastorno seleccionado de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endócrina y trastornos neurológicos, y mediados por tirosina cinasa de Bruton.

14. El método de la reivindicación 13 en donde la enfermedad o trastorno es un trastorno inmune.

15. El método de la reivindicación 14 en donde el trastorno inmune

es artritis reumatoide.

16. El método de la reivindicación 13 en donde la enfermedad o trastorno es inflamación sistémica y local, artritis, inflamación relacionada con supresión inmune, rechazo al trasplante de órganos, alergias, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, dermatitis, asma, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, escleroderma/esclerosis sistémica, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), vasculitis de anticuerpos citoplásmicos anti-neutrófilos (ANCA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), psoriasis.

17. El método de la reivindicación 13 en donde la enfermedad o trastorno es cáncer seleccionado de cáncer de mama, ovario, cérvix, próstata, testículo, tracto genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratocantoma, pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de célula grande, carcinoma pulmonar de célula no pequeña (NSCLC), carcinoma de célula pequeña, adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma no diferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado, y pasajes biliares, carcinoma de riñón, pancreático, trastornos mieloides, linfoma, células vellosas, cavidad bucal, nasofaríngeo, faríngeo, de labio, lengua, boca, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y del sistema nervioso central, de Hodgkin, leucemia, bronquios, tiroides, conducto biliar hepático e intra-hepático, hepatocelular, gástrico, glioma/glioblastoma, endometrial, melanoma, de riñón y pelvis renal, vejiga urinaria, cuerpo uterino, cérvix uterino, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide, de cavidad oral y faringe, linfoma no de Hodgkin, melanoma y adenoma de colon vellosos.

18. El método de la reivindicación 13 que comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente anti-inflamatorio, un agente inmunomodulador, un agente quimioterapéutico, un factor neurotrópico, un agente para tratar una enfermedad cardiovascular, un agente para tratar una enfermedad hepática, un agente antiviral, un agente para tratar trastornos sanguíneos, un agente para tratar diabetes, y un agente para tratar trastornos de inmunodeficiencia.

19. Un equipo para tratar una condición mediada por tirosina cinasa de Bruton, que comprende:

- a) una composición farmacéutica de la reivindicación 10; y
- b) instrucciones para su uso.

5 20. La composición farmacéutica de la reivindicación 10 para uso como un medicamento en el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endocrina y trastornos neurológicos, y mediados por la tirosina cinasa de Bruton.

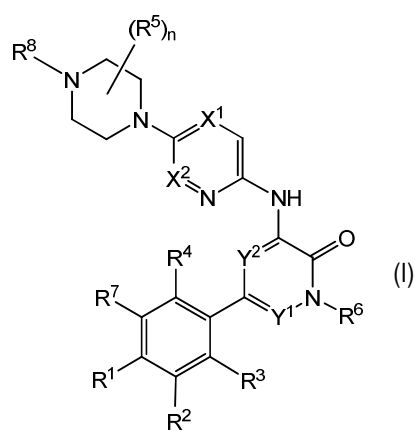
10 21. El uso de una composición farmacéutica de la reivindicación 10 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos inmunes, cáncer, enfermedad cardiovascular, infección viral, inflamación, trastornos del metabolismo/función endocrina y trastornos neurológicos, y en donde el medicamento media la tirosina cinasa de Bruton.

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 30-04-14 (30) Prioridad (31) No. Prioridad 61/555,395 (32) Fecha 03-11-11 (33) País US (51) Int Cl: C07D 471/04 (71) Solicitante(s): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (72) Inventor(es): CRAWFORD, James John y YOUNG, Wendy B. (74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-06-14 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 02-11-12 No. de solicitud: PCT/US2012/063198 (87) Publicación internacional Fecha: 10-05-13 No. publicación: WO 2013/067277 A1	
(54) Titulo: “COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK”	

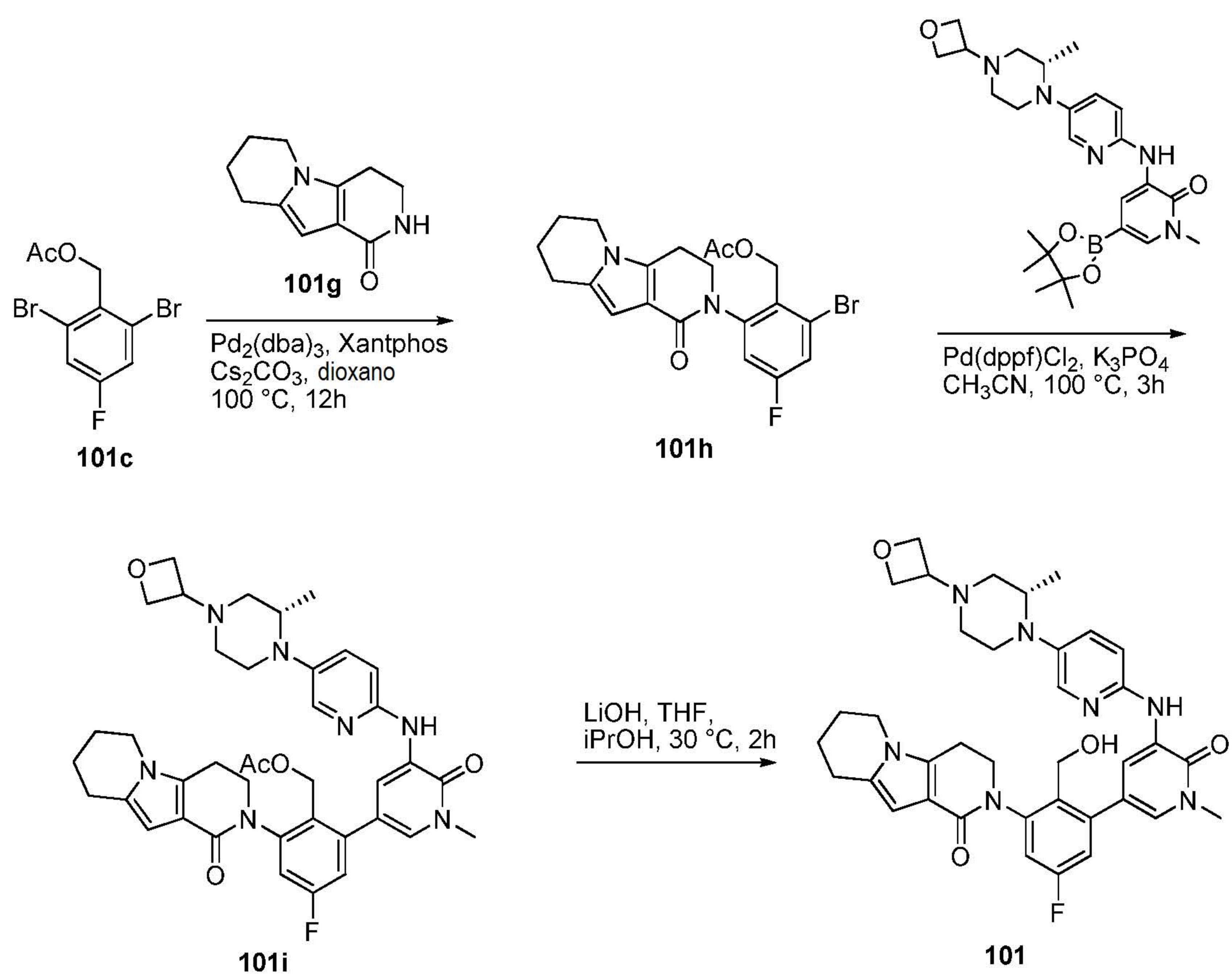
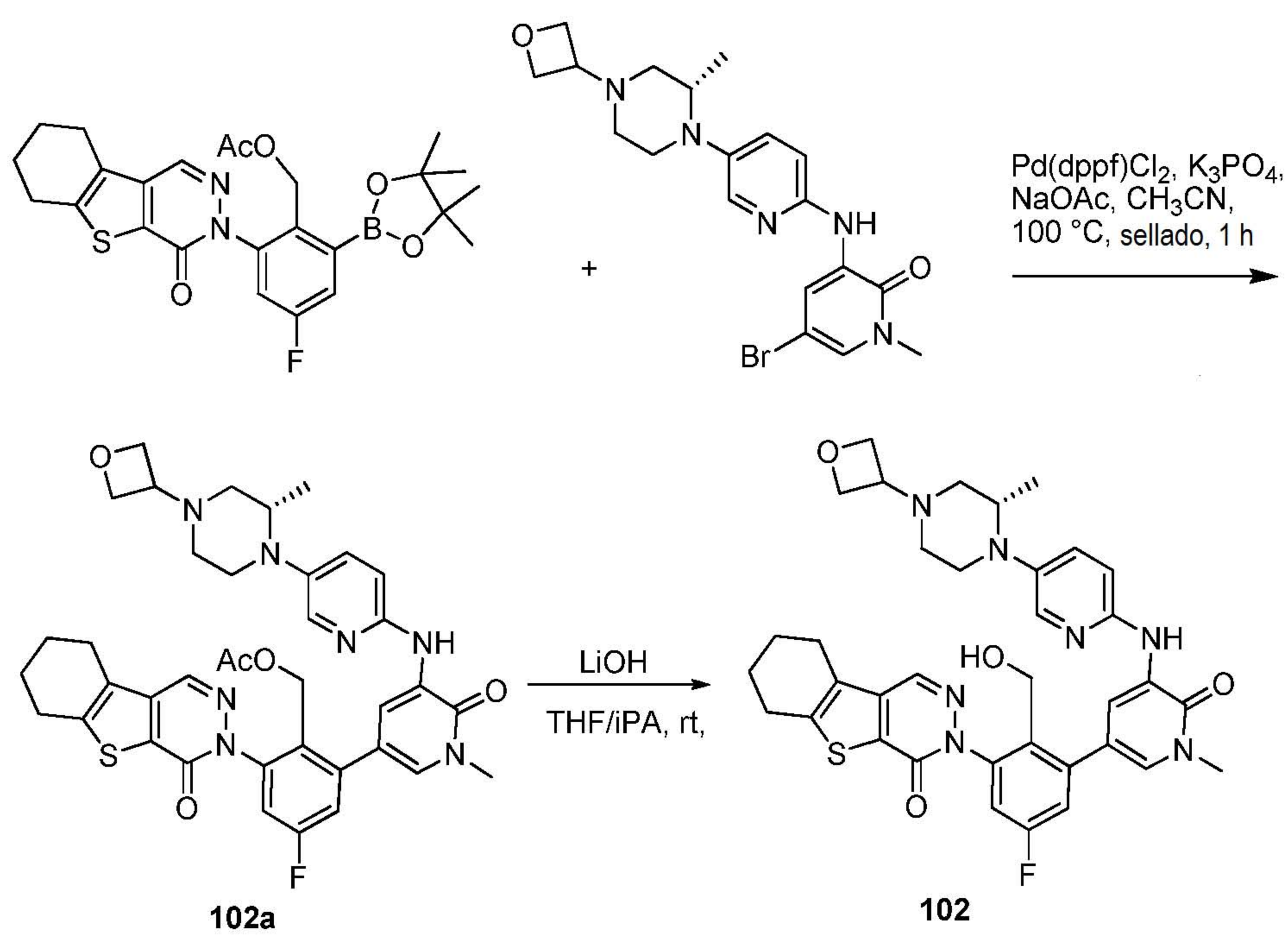
Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

Se proporcionan los compuestos de piperazina alquilados de la Fórmula I incluyendo sus estereoisómeros, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables, útiles para inhibir Btk cinasa y para tratar trastornos inmunes tales como la inflamación mediada por Btk cinasa. Se describen métodos para utilizar los compuestos de la Fórmula I para el diagnóstico y el tratamiento in vitro, in situ e in vivo de tales trastornos en células de mamífero, o condiciones patológicas asociadas.



SECTOR: Química Farmacéutica. Compuestos químicos sintéticos con actividad anti-inflamatoria al inhibir la actividad de la tirosina quinasa de Bruton.

**Fig 1****Fig 2**

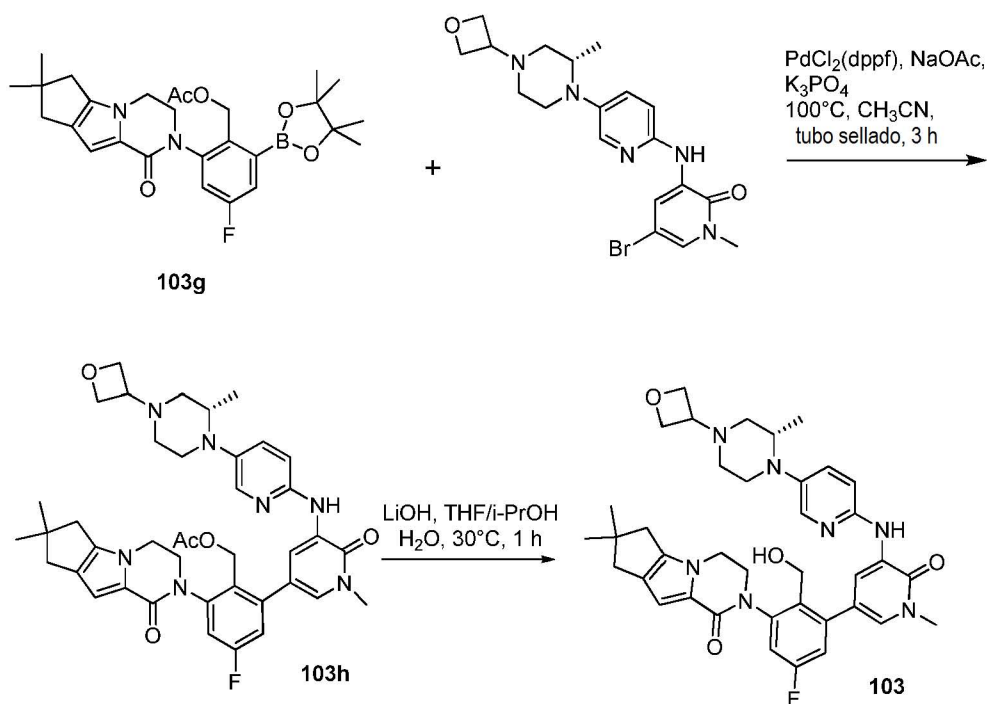


Fig 3

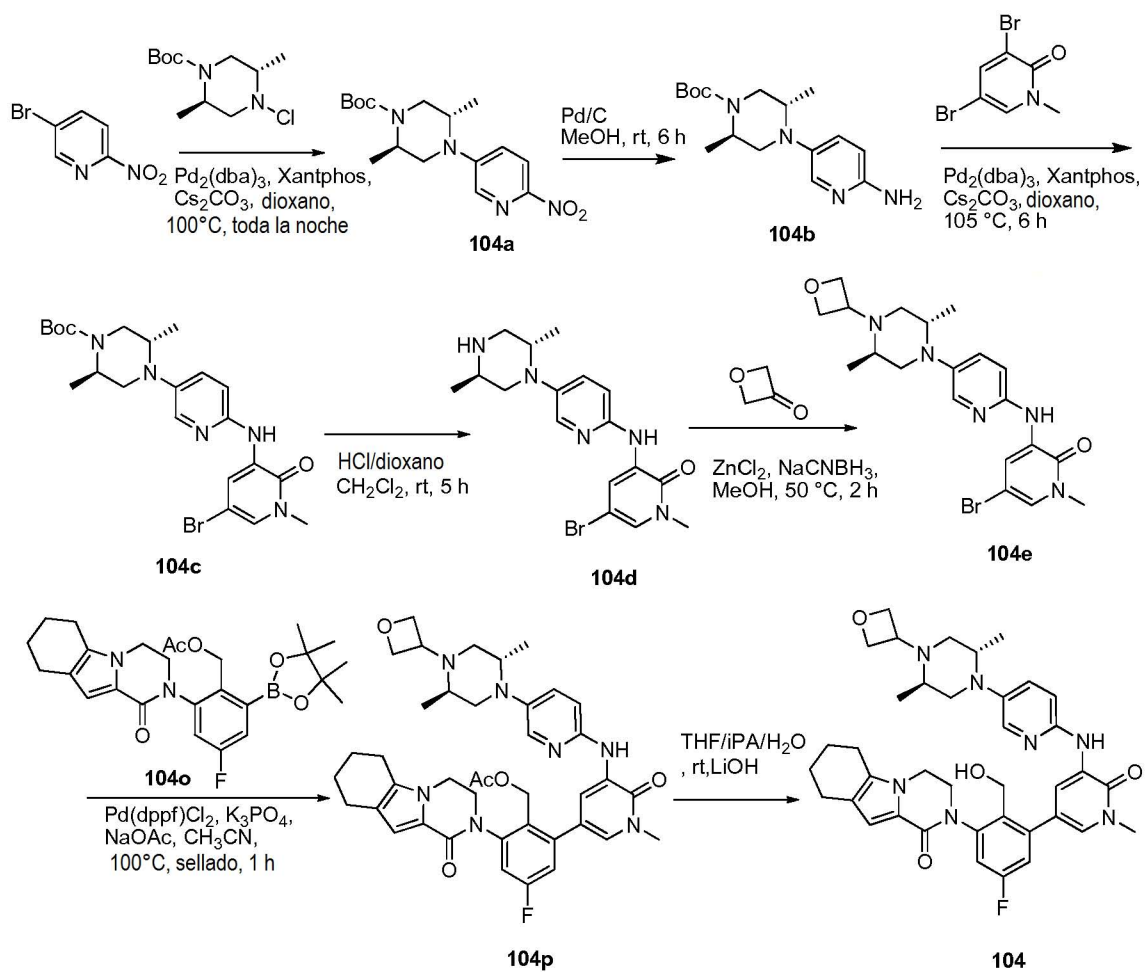
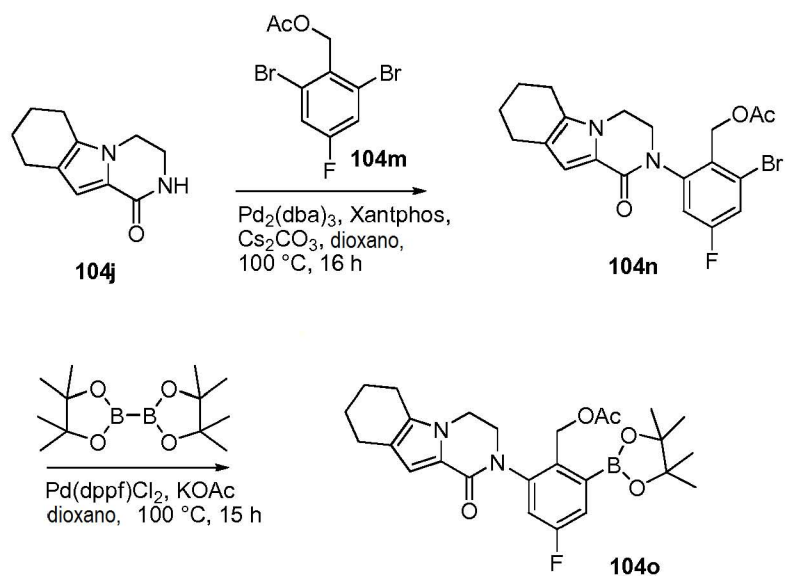
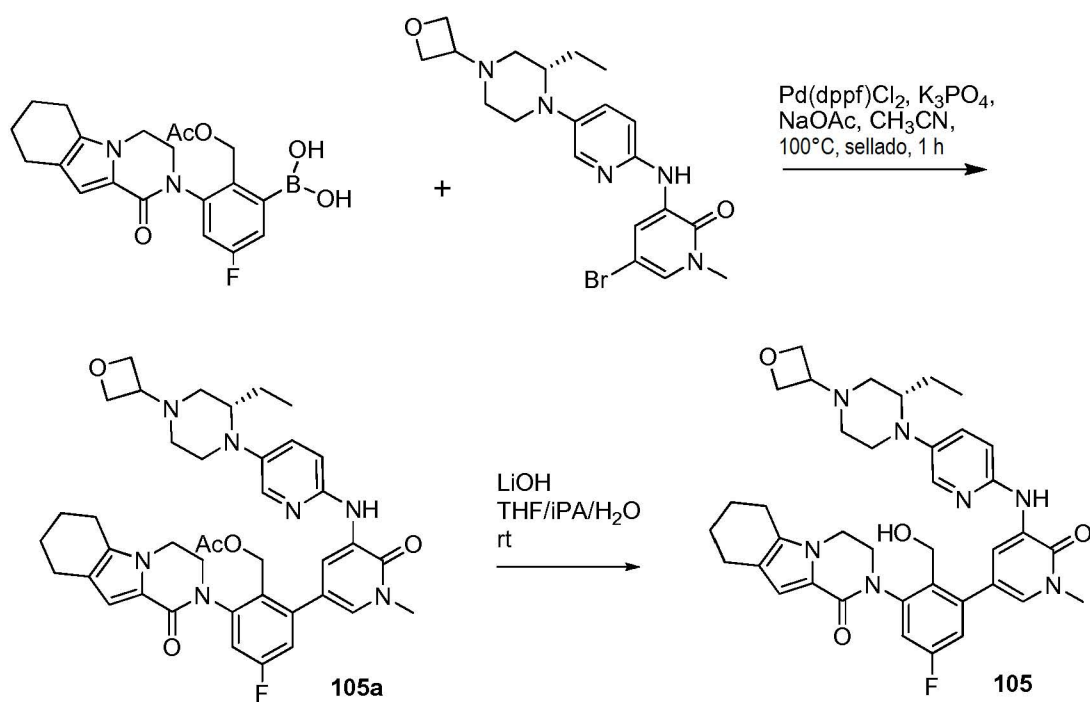


Fig 4a

**Fig 4b****Fig 5**



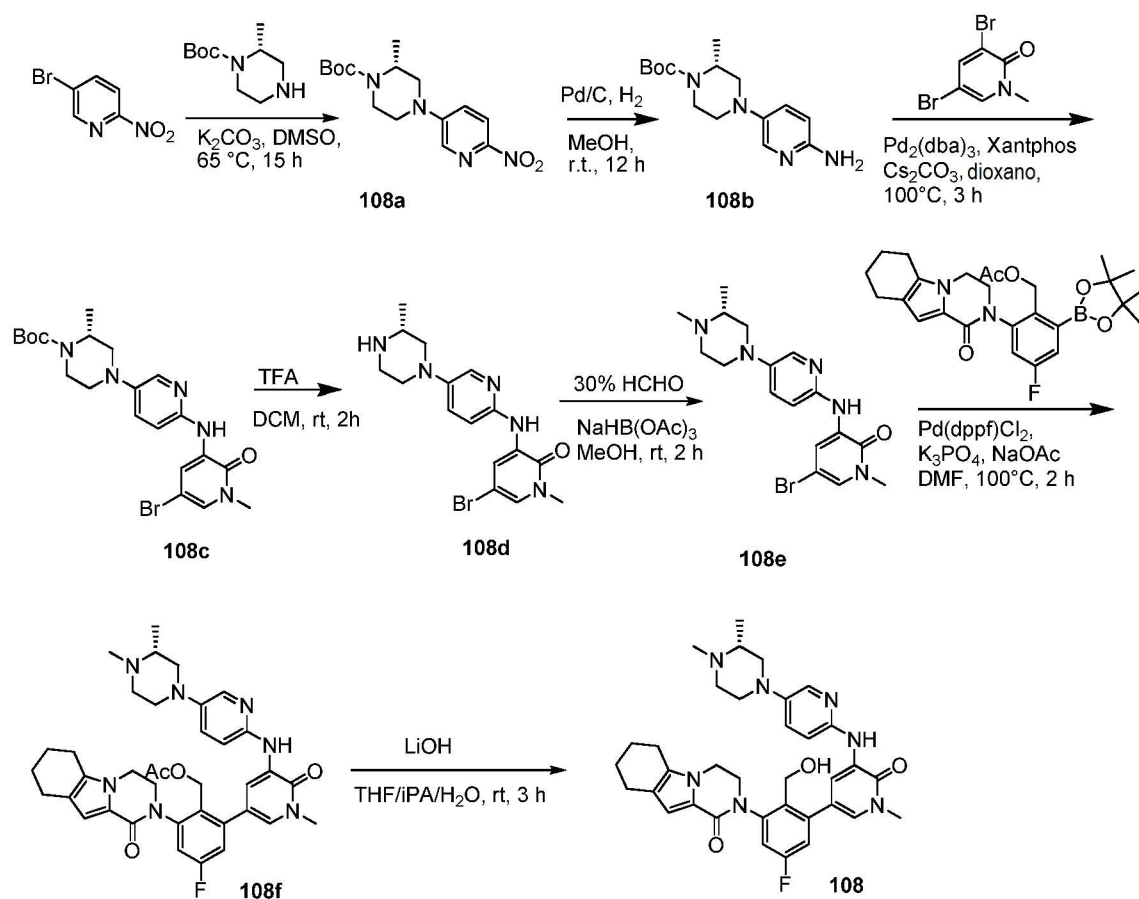


Fig 8

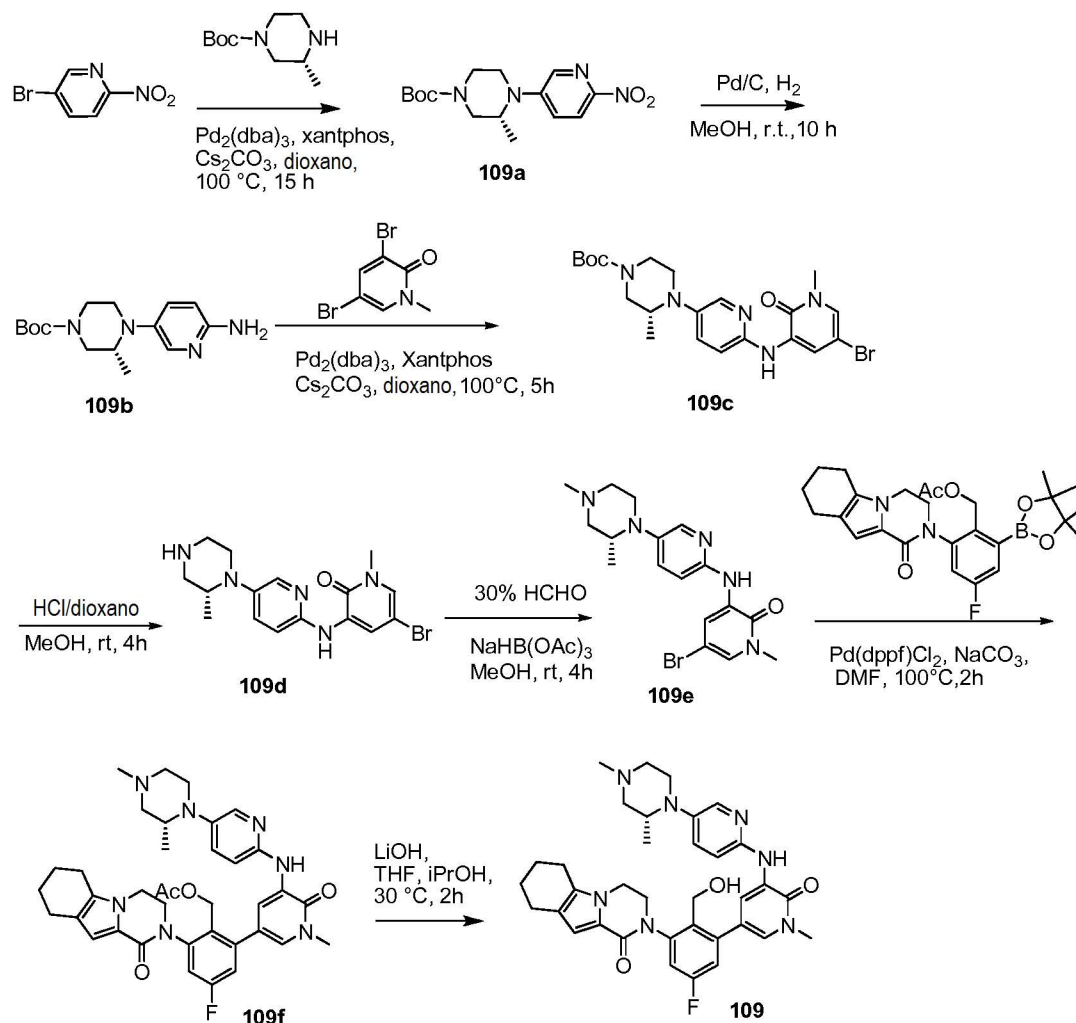


Fig 9

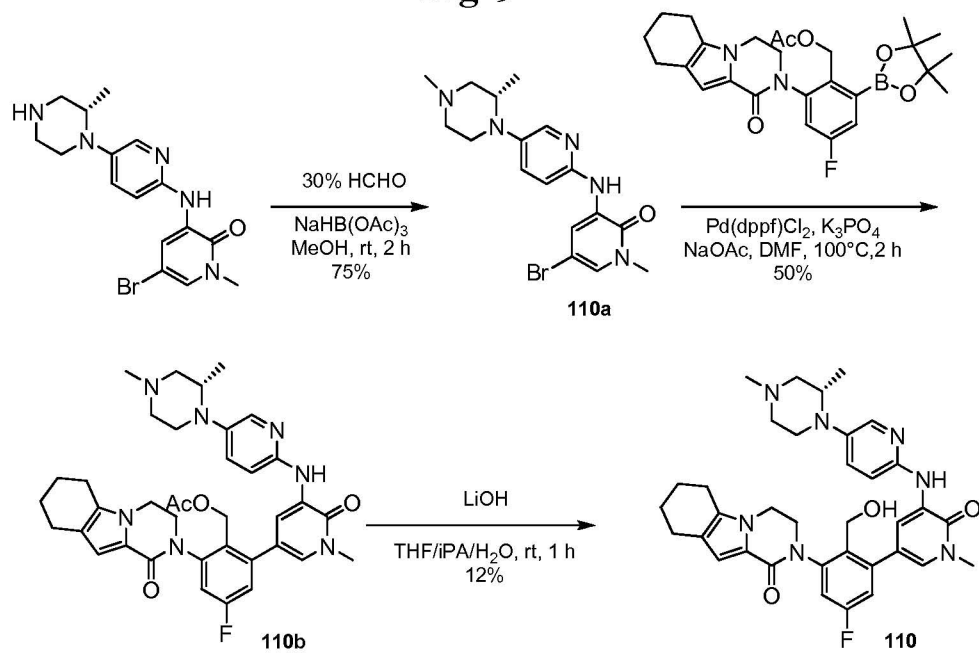


Fig 10

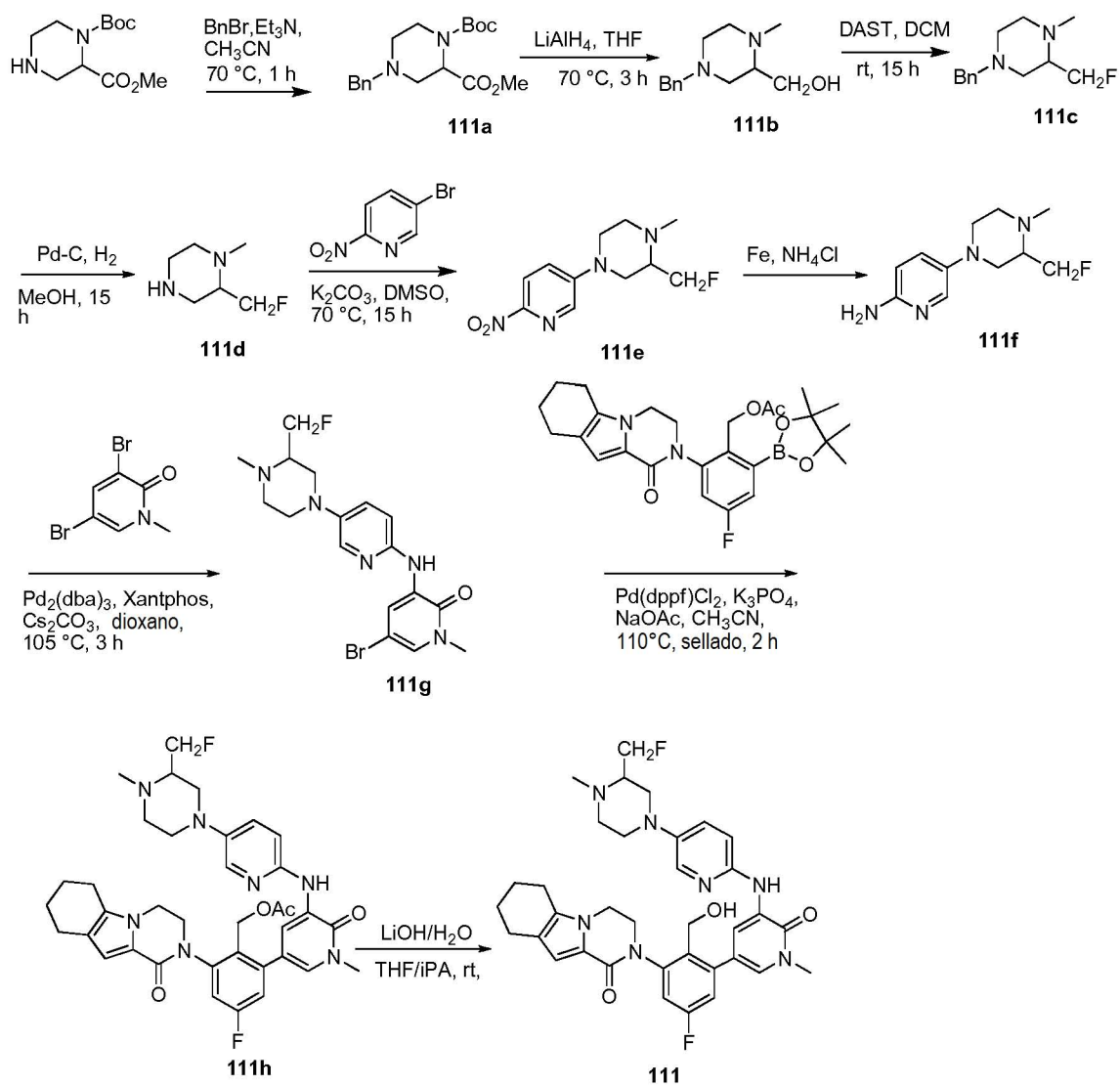


Fig 11

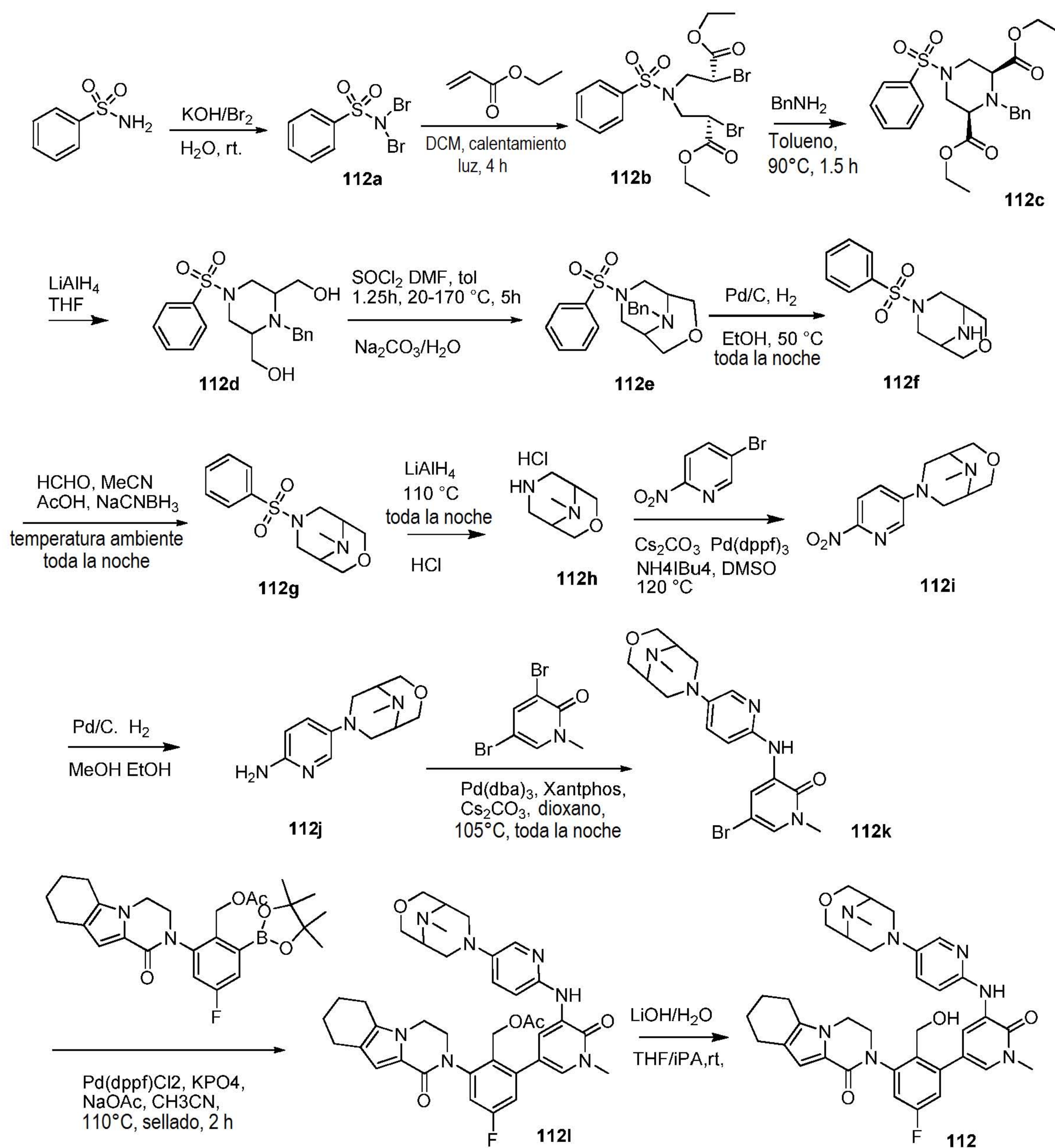


Fig12

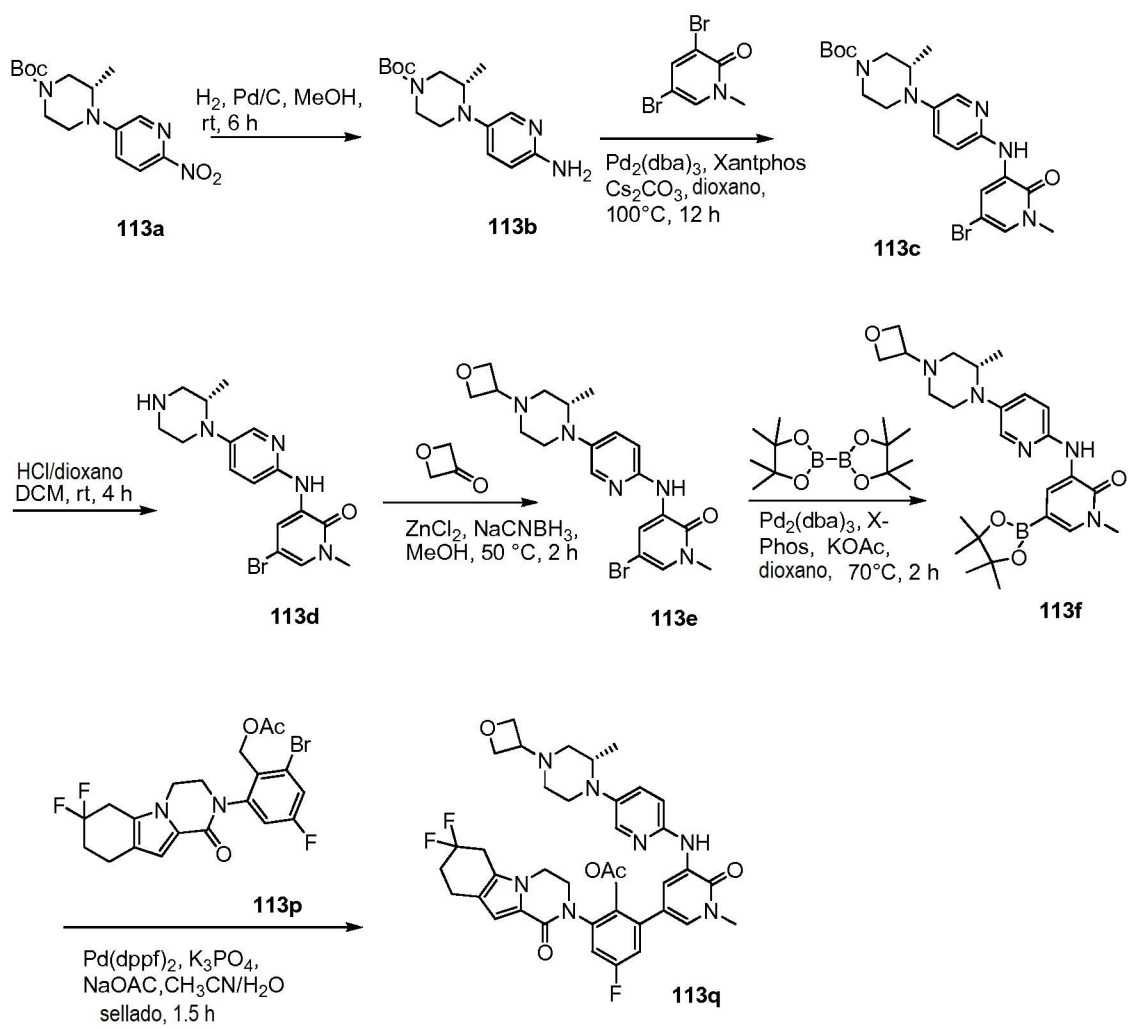


Fig 13

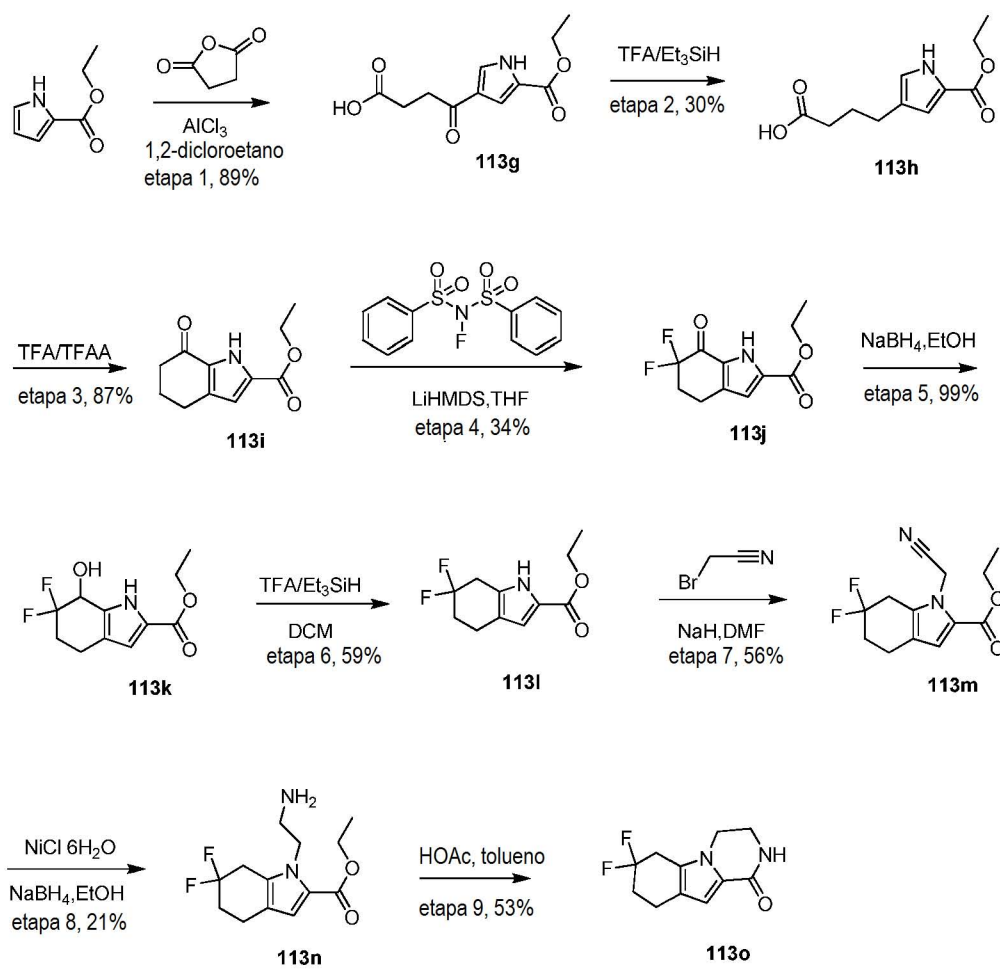


Fig 14

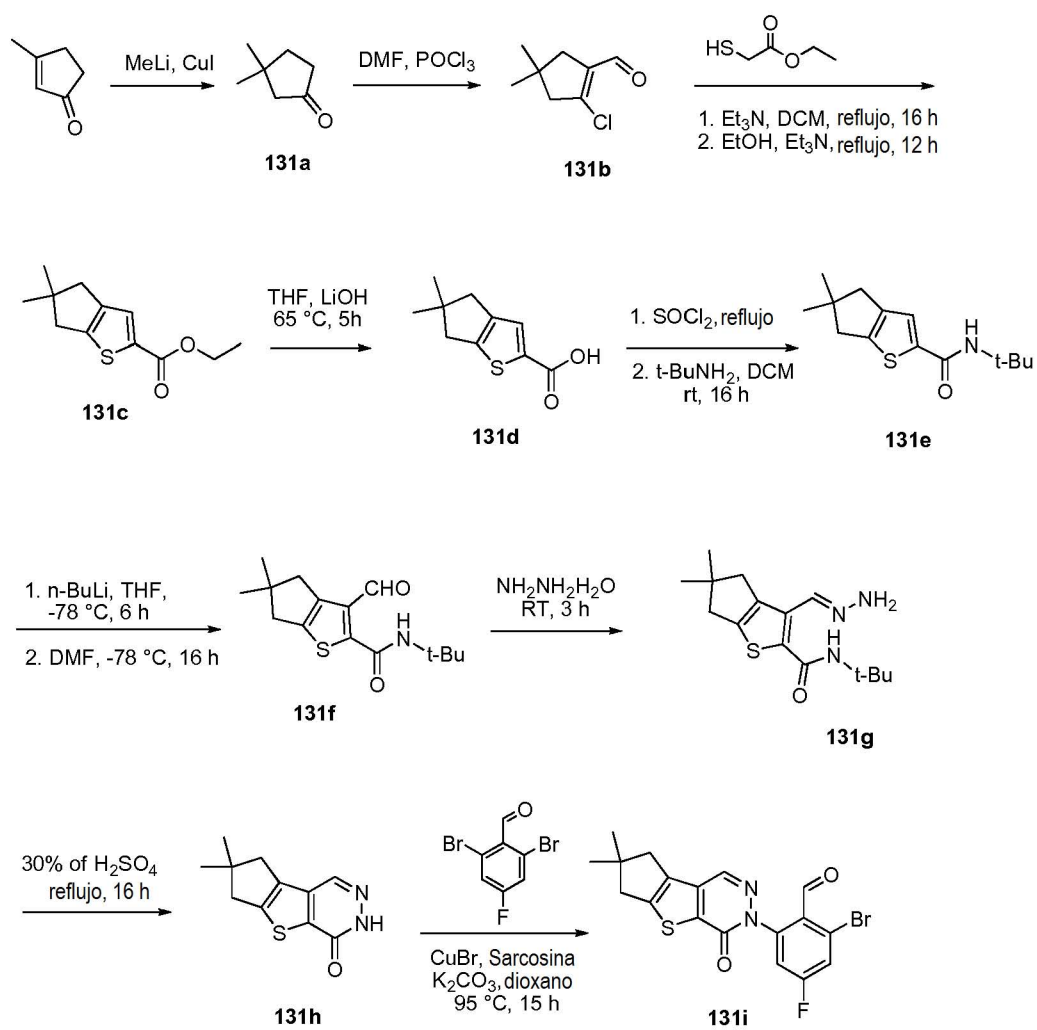


Fig 15

PCT

(PCT Rule 92*bis*.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

ANDRUS, Alex
Genentech, Inc.
1 DNA Way
MS 49
South San Francisco, California 94080
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (<i>day/month/year</i>) 07 April 2014 (07.04.2014)	
Applicant's or agent's file reference P4776R1-WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2012/063198	International filing date (<i>day/month/year</i>) 02 November 2012 (02.11.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent ☐ the common representative
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☒ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality	☐ the residence	
Name and Address F. HOFFMANN-LA ROCHE AG Grenzacherstrasse 124 CH-4070 Basel Switzerland	State of Nationality	State of Residence
	CH	CH
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized		

3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 has been added as applicant for all designated States except US.

4. A copy of this notification has been sent to:		☐	the International Preliminary Examining Authority
☒	the receiving Office	☒	the designated Offices concerned
☐	the International Searching Authority	☐	the elected Offices concerned
☐	the Authority(ies) specified for supplementary search	☐	other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 70 90	Authorized officer Parianou Christina e-mail pt01.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 01
--	--

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

ANDRUS, Alex
Genentech, Inc.
1 DNA Way
MS 49
South San Francisco, California 94080
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 07 April 2014 (07.04.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P4776R1-WO	
International application No. PCT/US2012/063198	International filing date (day/month/year) 02 November 2012 (02.11.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address GENENTECH, INC. 1 DNA Way South San Francisco, California 94080 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 650-225-1000	
	Facsimile No. 650-952-9881	
	E-mail address docketing-d@gene.com	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address See box 3	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 1 is now applicant for US only.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 70 90	Authorized officer Parianou Christina e-mail pt01.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 01
---	---

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2012/063198

International filing date (day/month/year)
02.11.2012

Priority date (day/month/year)
03.11.2011

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D471/04 C07D495/04 C07D519/00 A61K31/4985 A61K31/381 A61P35/00 A61P37/00

Applicant
GENENTECH, INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office

D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Stix-Malaun, Elke

Telephone No. +49 89 2399-8057



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2012/063198

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2012/063198

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-21</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-21</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-21</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and /or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

V REASONED STATEMENT

1. PRIOR ART

Reference is made to the following document:

D1 WO 2010/122038 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; DEWDNEY NOLAN JAMES [US]; HAWLEY RONALD CHARLE) 28 October 2010 (2010-10-28)

2. GENERAL STATEMENT

Claims 13-18 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1 (iv)/Rule 67.1(iv) PCT. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for in a first or further medical treatment.

3. NOVELTY

The subject-matter of the claims is considered to be novel (Article 33(2) PCT): The essential structural difference between the claimed compounds and the ones from D1 resides at least in the nature of the heterocycles corresponding to present variable R7.

4. INVENTIVE STEP

The subject-matter of the claims does not appear to fulfil the requirements of Article 33(3) PCT for the following reasons:

The application relates to substituted phenyl pyridone and aza-pyridone compounds useful as inhibitors of Btk activity for the treatment of diseases such as cancer and inflammatory diseases.

The closest state of the art for the present application is represented by D1. Said documents disclose structurally similar substituted pyridone and aza-pyridone compounds having the same properties which do not fall under the present application as explained under item novelty.

The problem underlying the present application may be seen in the provision of further substituted pyridone and aza-pyridone compounds for the treatment of diseases such as cancer and inflammatory diseases.

It is derivable from the disclosure that said problem appears to have been credibly solved by the whole scope of the claims (see p.134 and sequ., tab 1-3)

D1 teaches variation for the definitions at the azapyridone unit or the unit corresponding to the present R7 unit. In particular Q1 and Q2 of D1 may denote i.a. nitrogen which means that also moieties where two heterocyclic units are fused are suggested. The only remaining difference resides in the fact that the fused unit of D1 contains a 7 membered unit (instead of a 6 membered one). The presently claimed compounds therefore appear to be simply homologous to the ones of D1 and would obviously have been envisaged by the skilled person.

The problem therefore has to be seen in the provision of further phenyl pyridone and aza-pyridone compounds exhibiting unexpected qualities in relation to the ones of D1. No comparative data of any other additional information is provided in the description. Therefore, inventive step cannot be acknowledged.

VI CERTAIN DOCUMENTS CITED

- D2 WO 2012/031004 A1 (GILEAD CONNECTICUT INC [US]; GENENTECH INC [US]; CURRIE KEVIN S [US];) 8 March 2012 (2012-03-08)
- D3 WO 2011/140488 A1 (GILEAD CONNECTICUT INC [US]; GENENTECH INC [US]; BARBOSA ANTONIO J M []) 10 November 2011 (2011-11-10)

The validity of the presently claimed priority document could not be checked so far.

The generic expressions of D3 (see claims) form an overlapping part with the present ones. In addition to that D3 discloses multiple examples falling within said overlap. D3 is therefore novelty destroying.

The essential structural difference between the claimed compounds and the ones from D2 resides at least in the nature of present heterocyclic radicals according to present variable R7.

VIII CERTAIN OBSERVATIONS

The references (to Tables 1 and 2) in claims 8 and 9 are vague.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No.

de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello de la traductora, lo mismo que la presente.-

Traducción de la apostilla en inglés que se encuentra a continuación de la legalización de las firmas de los señores Klausner y Strebel, representantes legales de F. Hoffmann-La Roche, que aparecen en un documento de Poder, escrito en español e inglés, conferido a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, expedida en idioma inglés por el notario Peter Kuster, bajo el No. 2004/20, el 17-08-2004, en Basilea, Suiza.

AUTENTICACION OFICIAL

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Suiza

Este documento público

2. Ha sido firmado por el Lic. iur. Peter Kuster

3. Actuando en calidad de notario público

4. Lleva el sello del mencionado notario

Certificado

5. en Basel (Basilea)

6. el 18 de agosto 2004

7. por la Cancillería de Estado del Cantón de Basel-Stadt

8. bajo el No 8835/13376

9. Sello

10. Firma

Cancillería de Estado

Fdo.: firma ilegible

de la ciudad de Basel (Basilea)

Ruedi Eggs

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los archivos de estas oficinas para su confrontación.

Bogotá, 2 de septiembre 2004

Maria Mercedes Uricoechea T.
Maria Mercedes Uricoechea T.
 Traductora Juramentada
 Resolución 10607/81 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

258651

ZONA SET - 3 P 12:12

Para Urcochea

UCS

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

Los abajo firmados, **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza.

con domicilio en **4070 Basilea, Suiza**

The undersigned, **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**, a corporation organized and existing under the laws of Switzerland.

domiciled at **4070 Basel, Switzerland**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

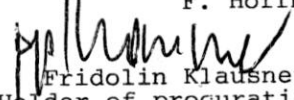
Dado y firmado

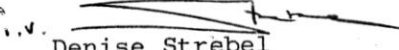
hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this *17th day of August 2009.*
F. Hoffmann-La Roche AG


Fridolin Klausner
Holder of procuration


Denise Strébel
Mandatory

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Suiza
Basilea

{ss

El día 17 de Agosto de 2004, compareció Fridolin Klausner y Denise Stöbel, ambos ciudadanos y residentes suizos, de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es titular del poder/mandatario de F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la ciudad de Basilea, Suiza, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de Suiza; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Suiza, ciudad de Basilea, con fecha 19 Junio 1997, y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

Switzerland
Basel

{ss

On this 17th day of August, 2004, personally, Fridolin Klausner and Denise Stöbel came both, Swiss citizens and Swiss residents, to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Holder of Procuration/Mandatory of F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the Switzerland, domiciled at the City of Basel, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of Switzerland; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at Suiza, ciudad de Basel, under date of 19th day of June 1997, and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

Basel, this 17-08-2004 (seventeenth day of two thousand and four)

Dr. P. Kuster
Notar



Allg. Pro.

Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel

OFFICIAL AUTHENTICATION
(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)

This official document

2. is signed by Dr. R. Kuch

3. in his/her function as Att. Noller

4. and certified by the seal of the Gemeinde

Certified **18. Aug. 2004**

5. in Basel (Bâle)

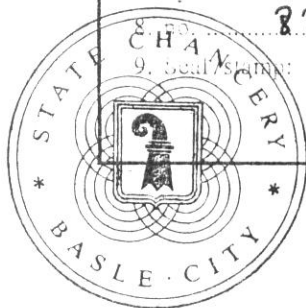
6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. No. **8835 / 10 376**

9. Seal/Stamp:

10. Signature: R





(51) International Patent Classification:

C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/381 (2006.01)
C07D 495/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2012/063198

(22) International Filing Date:

2 November 2012 (02.11.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/555,395 3 November 2011 (03.11.2011) US

(71) Applicant: GENENTECH, INC. [US/US]; 1 DNA Way,
South San Francisco, California 94080 (US).(72) Inventors: CRAWFORD, James John; c/o Genentech,
Inc., 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080
(US). YOUNG, Wendy B.; c/o Genentech, Inc., 1 DNA
Way, South San Francisco, California 94080 (US).(74) Agents: ANDRUS, Alex et al.; Genentech, Inc., 1 DNA
Way, MS 49, South San Francisco, California 94080 (US).

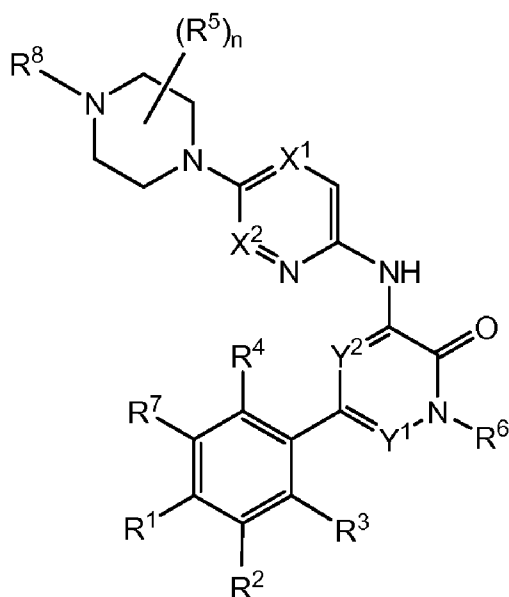
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: ALKYLATED PIPERAZINE COMPOUNDS AS INHIBITORS OF BTK ACTIVITY



(I)

(57) Abstract: Alkylated piperazine compounds of Formula I are provided, including stereoisomers, tautomers, and pharmaceutically acceptable salts thereof, useful for inhibiting Btk kinase, and for treating immune disorders such as inflammation mediated by Btk kinase. Methods of using compounds of Formula I for *in vitro*, *in situ*, and *in vivo* diagnosis, and treatment of such disorders in mammalian cells, or associated pathological conditions, are disclosed.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference P4776R1 - WO	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2012/063198	International filing date (<i>day/month/year</i>) 02/11/2012	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 03/11/2011
Applicant GENENTECH, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
- ☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

ALKYLATED PIPERAZINE COMPOUNDS AS INHIBITORS OF BTK ACTIVITY

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/063198

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D471/04 C07D495/04 C07D519/00 A61K31/4985 A61K31/381
A61P35/00 A61P37/00

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y,P	WO 2012/031004 A1 (GILEAD CONNECTICUT INC [US]; GENENTECH INC [US]; CURRIE KEVIN S [US];) 8 March 2012 (2012-03-08) page 34; example 146 claims	1-21
X,P	WO 2011/140488 A1 (GILEAD CONNECTICUT INC [US]; GENENTECH INC [US]; BARBOSA ANTONIO J M []) 10 November 2011 (2011-11-10) examples; table 1 Examples such as 113,198,204,209-214,237,242,304,312,326,327,330-334,339,342,346,349,353-355,357,361-368 claims claims 1,9,20 ----- -/-	1-21



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 December 2012

Date of mailing of the international search report

19/12/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stix-Malaun, Elke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2012/063198

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2010/122038 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; DEWDNEY NOLAN JAMES [US]; HAWLEY RONALD CHARLE) 28 October 2010 (2010-10-28) examples page 28; table I; compounds I-5,I-10 claims -----	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/063198

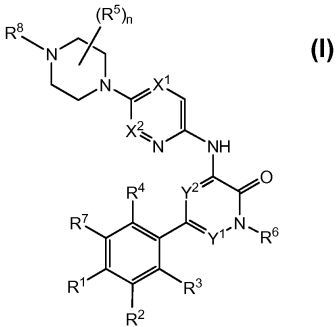
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012031004	A1	08-03-2012	NONE
WO 2011140488	A1	10-11-2011	AU 2011249912 A1 29-11-2012 US 2012010191 A1 12-01-2012 WO 2011140488 A1 10-11-2011
WO 2010122038	A1	28-10-2010	CA 2748414 A1 28-10-2010 CN 102292329 A 21-12-2011 EP 2421854 A1 29-02-2012 JP 2012524748 A 18-10-2012 SG 175287 A1 28-11-2011 US 2010273768 A1 28-10-2010 WO 2010122038 A1 28-10-2010



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISI3N DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) No. de solicitud:					(22) Fecha de solicitud: 30-04-14				
(51) Clasificaci3n Internacional: C07D 471/04									
(71) Solicitante(s): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG									
(72) Inventor(es): CRAWFORD, James John y YOUNG, Wendy B.									
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE									
(30) Prioridad		(31) No. Prioridad		(32) Fecha		(33) País			
		61/555,395		03-11-11		US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-06-14					(87) Publicaci3n internacional Fecha: 10-05-13 No. Publicaci3n: WO 2013/067277 A1				
(86) Datos relativos a la presentaci3n de la solici. PCT									
Fecha de presentaci3n de la solicitud: 02-11-12 No. de solicitud: PCT/US2012/063198									

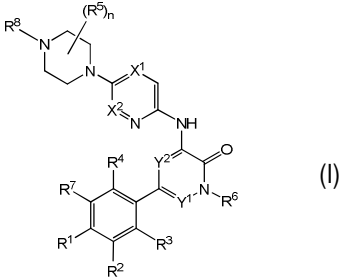


(54) Título: COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK.

(57) Resumen:

Resumen.-

Se proporcionan los compuestos de piperazina alquilados de la F3rmula I incluyendo sus estereois3meros, taut3meros y sales farmac3uticamente aceptables, 3tiles para inhibir Btk cinasa y para tratar trastornos inmunes tales como la inflamaci3n mediada por Btk cinasa. Se describen m3todos para utilizar los compuestos de la F3rmula I para el diagn3stico y el tratamiento in vitro, in situ e in vivo de tales trastornos en c3lulas de mamífero, o condiciones patol3gicas asociadas.



SECTOR: Química Farmac3utica. Compuestos químicos sint3ticos con actividad anti-inflamatoria al inhibir la actividad de la tirosina quinasa de Bruton.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISI3N DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) No. de solicitud:					(22) Fecha de solicitud: 30-04-14				
(51) Clasificaci3n Internacional: C07D 471/04									
(71) Solicitante(s): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG									
(72) Inventor(es): CRAWFORD, James John y YOUNG, Wendy B.									
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE									
(30) Prioridad		(31) No. Prioridad		(32) Fecha		(33) País			
		61/555,395		03-11-11		US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-06-14					(87) Publicaci3n internacional Fecha: 10-05-13 No. publicaci3n: WO 2013/067277 A1				
(86) Datos relativos a la presentaci3n de la solicitud PCT									
Fecha de presentaci3n de la solicitud: 02-11-12 No. de solicitud: PCT/US2012/063198									

(54) Título: COMPUESTOS DE PIPERAZINA ALQUILADOS COMO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD BTK.