Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Radicación	16 172771 0000 0000	2016-06-29 14:36:58	
Trámite	11	PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	
Evento	378	FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I	
Actuación	411	PRESENTACION	Folios: 348
Dependencia	2020	DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	
Pago #1	66991	$ 64000	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1 Titulo de la Invención(200 caractares o espacios máximos)

COMPUESTOS N-HETEROARIL N-AZASPIROCICLOALCANO SUSTITUIDOS Y COMPOSICIONES PARA INHIBIR LA ACTIVIDAD DE SHP2

2 Datos del Solicitante

Nombre:	NOVARTIS AG	**Dirección Electrónica:**	patents@olartemoure.com
Dirección:	Lichtstrasse 35 CH-4056 Basel	**Domicilio/País de constitución:**	SUIZA - BASEL - BASEL

Identificación:

- ☐ CEDULA DE CIUDADANIA
- ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA
- ☒ EMPRESA EXTRANJERA
- ☐ NIT
- ☐ PASAPORTE

Número: 516861775003-

3 Solicitantes

	Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación
1.	NOVARTIS AG	NN	516861775003

4 Datos del Inventor

Nombre:	Christine Hiu-tung CHEN	**Dirección Electrónica:**	patents@olartemoure.com

Dirección:	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139	**Domicilio/País de constitución:**	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - MASSACHUSETTS - CAMBRIDGE

Identificación:

☐ CEDULA DE CIUDADANIA	☐ CEDULA DE EXTRANJERIA
☐ EMPRESA EXTRANJERA	☐ NIT
☐ PASAPORTE	☒ No Aplica

Número: -

5	**Inventor(es)**

	Apellidos - Nombres	**Domicilio**
1.	CHEN Christine Hiu-tung	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
2.	CHEN Zhuoliang	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
3.	DORE Michael	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
4.	GARCIA FORTANET Jorge	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
5.	KARKI Rajesh	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
6.	KATO Mitsunori	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
7.	LAMARCHE Matthew J.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
8.	PEREZ Lawrence Blas	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
9.	SMITH Troy Douglas	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
10.	WILLIAMS Sarah	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
11.	GIRALDES John William	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
12.	TOURE Bakary-barry	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
13.	SENDZIK Martin	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

6	**Datos Inventor(es)**

	País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
4.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
5.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
6.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 100 Technology Square Cambridge, MA 02139
7.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
8.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
9.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139

10.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 100 Technology Square Cambridge, MA 02139
11.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
12.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
13.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139

7	**Datos del Representante Legal / Apoderado**		
Nombre:	CARLOS R. OLARTE GARCIA	**Dirección Electrónica:**	patents@olartemoure.com
Dirección:	patents@olartemoure.com	**Domicilio/País de constitución:**	COLOMBIA - CUNDINAMARCA - BOGOTA D.C.

Identificación:

☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA

☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT

☐ PASAPORTE

Número: 79782747-

Presentación de Poder	
Año de Radicación	
Número de Radicación	

8	**Datos Solicitud: PCT / WO**		
Número Solicitud:	PCT/IB2015/050345	**Fecha Solicitud:**	16/01/2015

Número Publicacion:	WO 2015/107495	**Fecha Publicacion:**	23/07/2015

9	**Declaraciones de prioridad**	☒ SI ☐ NO

	(33) País de origen	Codigo del país	(31) No. Solicitud	(32) Fecha _
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	61/928,754	17/01/2014
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	61/991,129	09/05/2014

10	**Reivindicaciones**			
Número reivindicaciones:	23	**Pago Reivindicaciones:**	No	

11 Reducción de tasas.

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.

☐ 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 resolucón vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

☐ Micro, pequeñas y medianas empresas
☐ Universidades públicas o privadas
☐ Entidades sin ánimo de lucro

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos

12 Documentos Anexos

☒ Reivindicaciones
☒ Descripción
☐ Dibujos y/o Figuras
☒ Resumen
☐ Certificado Depósito Material Biológico
☐ Uso de Conocimiento tradicional
☐ Listado de secuencias
☐ Artes finales 12 x 12 cm
☒ Poderes, si fuere el caso
☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad
☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
☒ Otros Anexos

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

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

To:

NOVARTIS AG
Lichtstrasse 35
CH-4056 Basel
SUISSE

Date of mailing *(day/month/year)*
25 February 2015 (25.02.2015)

Applicant's or agent's file reference
56058-WO-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/IB2015/050345

International filing date *(day/month/year)*
16 January 2015 (16.01.2015)

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
SENDZIK, Martin
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue
Cambridge, MA 02139
United States of America

State of Nationality: US | State of Residence: US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address
pip_inbox.phchbs@novartis.com
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:
The person identified in Box 2 has been added as applicant and inventor for US.

4. A copy of this notification has been sent to:

☐ the receiving Office
☒ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 910 06 10

Authorized officer
Bellour Veronique
e-mail ro.ib@wipo.int
Telephone No. +4122 338 8602

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

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

To:

NOVARTIS AG
Lichtstrasse 35
CH-4056 Basel
SUISSE

Date of mailing *(day/month/year)*
25 February 2015 (25.02.2015)

Applicant's or agent's file reference
56058-WO-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/IB2015/050345

International filing date *(day/month/year)*
16 January 2015 (16.01.2015)

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
TOURE, Bakary-barry
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue
Cambridge, MA 02139
United States of America

State of Nationality: CA | State of Residence: US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address
pip_inbox.phchbs@novartis.com
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:
The person identified in Box 2 has been added as applicant and inventor for US.

4. A copy of this notification has been sent to:

☐ the receiving Office
☒ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 910 06 10

Authorized officer
Bellour Veronique
e-mail ro.ib@wipo.int
Telephone No. +4122 338 8602

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43*bis*.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.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/IB2015/050345	16.01.2015	17.01.2014

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D241/18 C07D241/20 ADD. A61K31/495 A61P35/04

Applicant
NOVARTIS AG

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 43*bis*.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 notifed the International Bureau under Rule 66.1*bis*(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:	Date of completion of this opinion	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	see form PCT/ISA/210	Telephone No. +49 89 2399-0

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/IB2015/050345

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 43*bis*.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:

   a. ☐ forming part of the international application as filed:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

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 forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-23
	No:	Claims	
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	1-23
	No:	Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-23
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)

see form 210

ITEM 5

Having regard to the documents cited by the Applicant in the description as well as the prior art cited in the preliminary International Search report, the claimed subject-matter differs from document

D1 WO 2008/110611 A1 (NOVARTIS AG [CH]; DAI MIAO [CN]; HE FENG [CN]; JAIN RISHI KUMAR [US];) 18 September 2008 (2008-09-18) due to Y-R^3 therein, compared with present R^{7+8}=spiro (hetero-)cyclic group; moreover, it discloses different specific R^2-het groups attached to piperidine/piperazine, compared with present pyridyl/pyrimidyl/pyridazyl moieties.

D2 EP 0 799 617 A2 (MITSUI PETROCHEMICAL IND [JP]; MITSUI PHARMACEUTICALS [JP] MITSUI PETR) 8 October 1997 (1997-10-08), differs due to present >CH(R^{7+8}) compared with >N-R^1 therein;

D3 WO 2014/160521 A1 (BLUEPRINT MEDICINES CORP [US]; HODOUS BRIAN L [US]; KIM JOSEPH L [US];) 2 October 2014 (2014-10-02), a P-document not relevant at this stage, differs due to present definition of >CH(R^{7+8}).

D4 WO 2012/027495 A1 (UNIV PACIFIC [US]; RUSSU WADE A [US]; SHALLAL HASSAN M [US]) 1 March 2012 (2012-03-01), differs due to present Y3=NH;

Intermediates in Scheme 2, p.24 differ due to present 5-(4-)amino substituent;

D5 WO 2005/117909 A2 (EXELIXIS INC [US]; ANAND NEEL K [US]; BLAZEY CHARLES M EXELIXIS INC [U) 15 December 2005 (2005-12-15), discloses 4-(piperidinyl/piperazinyl)-pyrazolo-/ imidazopyrimidyl compounds bearing different substituents.

The problem to be solved is considered to be the provision of compounds, which selectively inhibit SHP2 activity, for use in cancer treatment. Doc. (D1)/(D4)/(D5), which disclose structurally essentially different compounds having similar properties, are not considered to be relevant for inventive step. Doc.(D2) discloses different activity and is not relevant in this respect either.

(D3) is a P-document, not relevant at this stage.

The claimed activity has been substantiated in Tables 4-13 of the description.

The requirements of Art.33(2)/(3) PCT appear to be fulfilled.

It is noted by the IPEA that for the assessment of Claims 22,23, which are directed to a method of treatment of the human/animal body, on the question whether their subject-matter is industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT. The patentability under national patent laws can also be dependent on the formulation of the claims. The EPO, e.g., does not recognize the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment as being industrially applicable, but will allow, however, claims to a known compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

ITEM 6

D3 WO 2014/160521 is a P-document, not relevant at this stage, differing structurally due to the present definition of >CH(R^{7+8}) .

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	**FOR FURTHER ACTION**	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
56058-WO-PCT		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/IB2015/050345	16 January 2015 (16-01-2015)	17 January 2014 (17-01-2014)
Applicant		
NOVARTIS AG		

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.

[X] 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:
      [X] 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
   [X] the text has been established by this Authority to read as follows:

   N-AZASPIROCYCLOALKANE SUBSTITUTED N-HETEROARYL COMPOUNDS AND COMPOSITIONS FOR INHIBITING THE ACTIVITY OF SHP2

5. With regard to the **abstract,**
   [X] 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/IB2015/050345

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D241/18 C07D241/20
ADD. A61K31/495 A61P35/04

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2012/027495 A1 (UNIV PACIFIC [US]; RUSSU WADE A [US]; SHALLAL HASSAN M [US]) 1 March 2012 (2012-03-01) Differs due to present Y3=NH; Intermediates in Scheme 2, p.24 differ due to present 5-(4-)amino substituent.; examples -----	1-23
A	WO 2005/117909 A2 (EXELIXIS INC [US]; ANAND NEEL K [US]; BLAZEY CHARLES M EXELIXIS INC [U]) 15 December 2005 (2005-12-15) 4-(piperidinyl/piperazinyl)-pyrazolo-/imid azopyrimidyl compounds bearing different substituents; examples -----	1-23

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] 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	Date of mailing of the international search report
24 March 2015	24/04/2015

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Menegaki, Fotini

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/110611 A1 (NOVARTIS AG [CH]; DAI MIAO [CN]; HE FENG [CN]; JAIN RISHI KUMAR [US];) 18 September 2008 (2008-09-18) differs due to Y-R3 therein, compared with present R7+8=spiro (hetero-)cyclic group; moreover, it discloses different specific R2-het groups attached to piperidine/piperazine, compared with present pyridyl/pyrimidyl/pyridazyl moieties.; examples	1-23

A,P	WO 2014/160521 A1 (BLUEPRINT MEDICINES CORP [US]; HODOUS BRIAN L [US]; KIM JOSEPH L [US];) 2 October 2014 (2014-10-02) differs dur to present definition of >CH(R7+8); examples	1-23

A	EP 0 799 617 A2 (MITSUI PETROCHEMICAL IND [JP]; MITSUI PHARMACEUTICALS [JP] MITSUI PETR) 8 October 1997 (1997-10-08) differs due to present R1 compared with R3 therein; examples	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2015/050345

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012027495 A1	01-03-2012	US 2012053183 A1	01-03-2012
		WO 2012027495 A1	01-03-2012
WO 2005117909 A2	15-12-2005	AU 2005249380 A1	15-12-2005
		CA 2563699 A1	15-12-2005
		EP 1750727 A2	14-02-2007
		JP 5213229 B2	19-06-2013
		JP 2007534687 A	29-11-2007
		US 2008076774 A1	27-03-2008
		WO 2005117909 A2	15-12-2005
WO 2008110611 A1	18-09-2008	AR 065718 A1	24-06-2009
		AU 2008225766 A1	18-09-2008
		BR PI0809193 A2	23-09-2014
		CA 2681162 A1	18-09-2008
		CL 2008000754 A1	24-10-2008
		CN 101657430 A	24-02-2010
		CO 6220967 A2	19-11-2010
		CR 11016 A	06-10-2009
		CU 20090159 A7	26-04-2011
		DO P2009000217 A	31-10-2009
		EA 200901170 A1	30-04-2010
		EC SP099636 A	30-10-2009
		EP 2137162 A1	30-12-2009
		GE P20125487 B	25-04-2012
		GT 200900244 A	15-03-2010
		JP 5550352 B2	16-07-2014
		JP 2010521438 A	24-06-2010
		KR 20090121386 A	25-11-2009
		MA 31258 B1	01-03-2010
		NZ 579402 A	30-03-2012
		PE 01882009 A1	20-03-2009
		SG 182205 A1	30-07-2012
		SM AP200900082 A	06-11-2009
		TW 200848414 A	16-12-2008
		UA 100684 C2	25-01-2013
		US 2010069368 A1	18-03-2010
		WO 2008110611 A1	18-09-2008
		ZA 200905949 A	27-10-2010
WO 2014160521 A1	02-10-2014	US 2014296206 A1	02-10-2014
		WO 2014160521 A1	02-10-2014
EP 0799617 A2	08-10-1997	DE 3752141 D1	02-01-1998
		DE 3752141 T2	26-03-1998
		EP 0257102 A1	02-03-1988
		EP 0799617 A2	08-10-1997
		US 4959368 A	25-09-1990
		WO 8704928 A1	27-08-1987

LISTA DE INVENTORES

Christine Hiu-tung CHEN
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

Zhuoliang CHEN
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Chino

Michael DORE
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Canadiense

Jorge Garcia FORTANET
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Español

Rajesh KARKI
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Canadiense

Mitsunori KATO
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
100 Technology Square Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Japones

Matthew J. LAMARCHE
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Estadounidense

Lawrence Blas PEREZ
Novartis Institutes for BioMedical Research,
Inc. 250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Estadounidense

Troy Douglas SMITH
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge, MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Britanico

Sarah WILLIAMS
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
100 Technology Square Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Britanico

John William GIRALDES
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Estadounidense

Bakary-barry TOURE
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Canadiense

Martin SENDZIK
Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.
250 Massachusetts Avenue Cambridge,
MA 02139
Estados Unidos
Citizen: Estadounidense

TRADUCCIÓN OFICIAL DE UN DOCUMENTO QUE ESTÁ ORIGINALMENTE EN INGLÉS

Nota del traductor:

El documento adjunto de poder de Novartis AG a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana Maria Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro lleva los siguientes datos en inglés.

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

1. En esta fecha, día 30 de Agosto de 2006, yo, el suscrito Notario Público certifico por medio del presente la autenticidad de las firmas del señor Arthur Canonica, ciudadano de Corticiasca, Suiza, residente en Wisen/SO, Suiza, y del Sr. Pascal Traub, ciudadano de Riehen, Suiza, residente en Basilea, Suiza, ambos personas mayores de edad y con dirección comercial en Lichstrasse 35, 4056, Basilea, Suiza. La autenticidad de la firmas fue establecida por medio de la comparación.
2. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas han ejecutado el anterior documento como apoderados de Novartis AG.
3. Además, yo, el Notario Público certifico por el presente que Novartis AG, con su principal lugar de negocios en Basilea, Suiza, está debidamente constituida, está actualmente vigente y que los propósitos para los cuales se otorgó el Documento de Poder están dentro del alcance de sus propósitos corporativos.

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Miniusticia

4. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas tienen la autoridad para ejecutar el documento de Poder y que por este instrumento, su representación es legal.

La base para mis certificaciones de los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los siguientes documentos auténticos:

- Documento de Poder de Novartis AG fechado el 19 de junio de 2006 y
- Extracto del Registro de Comercio del Cantón de la ciudad de Basilea para Novartis AG, en Basilea, fechado el 25 de enero de 2006.

Basilea, Suiza, este día 30 de Agosto de 2006.

(Firmado) Dr. Matthias Staehelin, Notario Público del Cantón de la ciudad de Basilea, Suiza.

Mi licencia vence el 11 de Marzo de 2009.

Hay una Apostilla de Suiza, firmada por Heidi Fischer, bajo el No. 8049/13584.

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción verdadera y completa del documento adjunto: "Novartis"

Fecha: 12 de Septiembre de 2006.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes.

Licencia No. 376 de 1993, del Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 No. 99-13 Oficina 411. Bogotá, Colombia.

Teléfono: (57-1) 2182308, (57-1) 6232925.

E-mail: treseser1@yahoo.com. No. 8346

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

OLARTERAISBECK
OLARTE RAISBECK & FRIERI LTDA.

Carlos R. Olarte
J. Ian Raisbeck
Ana María Frieri
Juan Guillermo Moure
Natalia Castro

Zayde Chahin
Jacqueline Chaparro
José Luis Londoño
Felipe Mendoza
Simón Salinas

Of Counsel
Guillermo Chahin
Graciela Melo

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's **Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right** in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

NOVARTIS AG

domiciliado en

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel / Switzerland

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las **Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual** de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

Hilbert Camonica

Pascal Hauck

Date/Fecha: June 27, 2006

City,Country/Ciudad,País: Basel, Switzerland

Attestation

1 On this date, the 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six), I, the undersigned Notary Public certify herewith the authenticity of the signatures of **Mr. Arthur Canonica**, citizen of Corticiasca, Switzerland, residing in Wisen/SO, Switzerland and of **Mr. Pascal Traub**, citizen of Riehen, Switzerland, residing in Basel, Switzerland, both of legal age and with business address at, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland. The authenticity of the signatures was established by means of comparison.

2 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have executed the foregoing document as proxy holders for Novartis AG.

3 Further, I, the Notary Public certify herewith that Novartis AG, having its principal place of business located in Basel / Switzerland, is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have the authority to execute the Power of Attorney and that for this instrument their representation is legal.

The foundation for my certifications contained in points 2 (two), 3 (three) and 4 (four) was the exhibition of the following authentic documents:

- Power of Attorney by Novartis AG dated June 19 (nineteen), 2006 (two thousand and six); and
- Extract from the Register of Commerce of the Canton of Basel-City for Novartis AG, in Basel, dated January 25 (twenty five), 2006 (two thousand and six).

BASEL, Switzerland, this 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six)

Dr. Matthias Staehelin, Notary Public
in the Canton of Basel-City, Switzerland

My license expires on March 11 (eleven), 2009 (two thousand and nine).

Leg.Prot.Nr. 915 /2006

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
   This official document
2. is signed by .....
   .....
3. in his/her function as .....
4. and certified by the seal of the .....
   .....

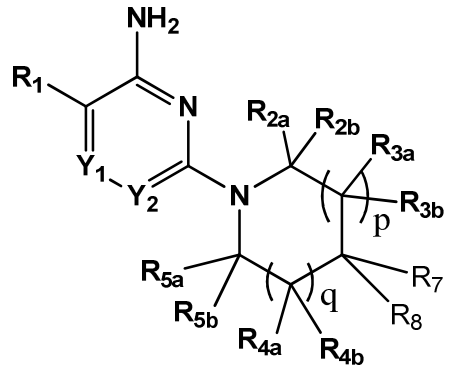
Certified .. Aug. 2006

5. in Basel (Bâle) 6. on .....
7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt .....
8. no. .....
9. Seal/stamp: 10. Signature:
   .....
   Heidi Fischer

STATE CHANCERY * BASLE-CITY *

RESUMEN

La presente invención se refiere a los compuestos de la fórmula I:



I

en donde p, q, Y_1, Y_2, R_1, R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b}, R_7 y R_8 se definen en la Breve Descripción de la Invención; capaces de inhibir la actividad de SHP2. La invención proporciona además un proceso para la preparación de los compuestos de la invención, las preparaciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, y los métodos para utilizar tales compuestos y composiciones en el manejo de las enfermedades o los trastornos asociados con la actividad aberrante de SHP2.

* * * * *

COMPUESTOS N-HETEROARIL N-AZASPIROCICLOALCANO SUSTITUIDOS Y COMPOSICIONES PARA INHIBIR LA ACTIVIDAD DE SHP2

ANTECEDENTES

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a los compuestos capaces de inhibir la actividad de SHP2. La invención proporciona además un proceso para la preparación de los compuestos de la invención, las preparaciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y los métodos para utilizar tales compuestos y composiciones en el manejo de las enfermedades o los trastornos asociados con la actividad aberrante de SHP2.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La fosfatasa de homología con Src 2 (SHP2) es una fosfatasa de tirosina no receptora de las proteínas codificada por el gen PTPN11 que contribuye a múltiples funciones celulares, incluyendo proliferación, diferenciación, mantenimiento del ciclo celular y migración. La SHP2 está involucrada en la señalización a través de las sendas de cinasa de proteína activada por mitógeno Ras, de JAK–STAT, o de cinasa de fosfoinositol 3-AKT.

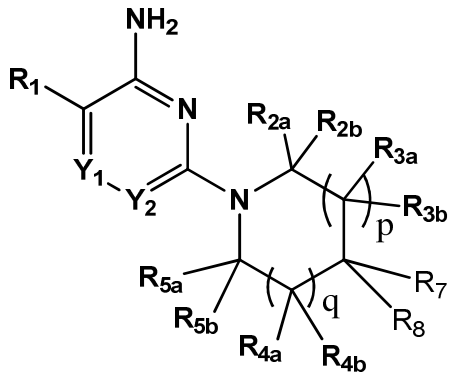
SHP2 tiene dos dominios de homología con Src 2 N-terminales (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP), y una cola C-terminal. Los dos dominios SH2 controlan la localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe

en una conformación inactiva auto-inhibida estabilizada por una red de enlace que involucra residuos a partir de ambos dominios N-SH2 y PTP. La estimulación mediante, por ejemplo, citoquinas o factores de crecimiento, conduce a la exposición del sitio catalítico, lo cual da como resultado la activación enzimática de SHP2.

Se han identificado mutaciones en el gen PTPN11 y subsiguientemente en SHP2 en varias enfermedades humanas, tales como síndrome de Noonan, síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda, y cánceres de mama, pulmón y colon. La SHP2, por consiguiente, representa un objetivo altamente atractivo para el desarrollo de terapias novedosas para el tratamiento de diferentes enfermedades. Los compuestos de la presente invención satisfacen la necesidad de moléculas pequeñas para inhibir la actividad de SHP2.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de la fórmula I:



I

en donde: p se selecciona a partir de 0 y 1; q se selecciona a partir de 0 y 1; Y_1 se selecciona a partir de CH y N; Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N; R_1 es $–XR_{1a}$; en donde R_{1a} se selecciona a partir de arilo de 6 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, cicloalquenilo de 3 a 8 átomos de carbono y un grupo heteroarilo de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, C(O), O y S; en donde este arilo o heteroarilo de R_{1a} está sustituido con 1 a 5 grupos R_9 independientemente seleccionados a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, dimetil-amino, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-C(O)OR_{10}$ y $–NHC(O)R_{10}$; y X se selecciona a partir de un enlace, $S(O)_m$, O, C(O), COR_{11}, $CR_{10a}R_{10b}$, NR_{11}; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; cada R_{10a} y R_{10b} se selecciona independientemente a partir de halógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y R_{11} se

selecciona a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; R_{2a} y R_{2b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{3a} y R_{3b} se seleccionan independientemente a partir de halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{4a} y R_{4b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; en donde cualesquiera dos grupos seleccionados a partir de R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b} y R_7 pueden formar un anillo de 5 a 6 miembros insaturado o parcialmente saturado; R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino-carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, alquilo

de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-S(O)_{1-2}R_{6a}$, $-C(S)R_{6a}$, $-C(O)NR_{6a}R_{6b}$, $-C(NH)\ NR_{6a}R_{6b}$ y $–NR_{6a}C(O)R_{6b}$; en donde R_{6a} y R_{6b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente de 1 a 3 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, C(O), O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con 1 a 3 grupos independientemente seleccionados a partir de amino, hidroxilo, metoxilo, halógeno, metilo, metil-amino e isobutiriloxilo.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, la cual contiene un compuesto de la fórmula I o un derivado de N-óxido, tautómero, los isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con uno o más excipientes adecuados.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad en un animal en donde la modulación de la actividad de SHP2 pueda prevenir, inhibir, o disminuir la patología y/o sintomatología de la enfermedad, cuyo método comprende administrar al animal, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula

I o de un derivado de N-óxido, de los isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad en un animal en donde la modulación de la actividad de SHP2 pueda prevenir, inhibir, o disminuir la patología y/o sintomatología de la enfermedad, cuyo método comprende administrar al animal, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I o de un derivado de N-óxido, de los isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una combinación simultánea o en secuencia con un producto terapéutico contra el cáncer.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un animal en donde la actividad de SHP2 contribuya a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

En un sexto aspecto, la presente invención proporciona un proceso para la preparación de los compuestos de la fórmula I, y de los derivados de N-óxido, derivados de pro-fármaco, derivados protegidos, de los isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos, y de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Definiciones

Los términos generales utilizados anteriormente en la presente y más adelante en la presente, de preferencia tienen, dentro del contexto de esta divulgación, los siguientes significados, a menos que se indique de otra manera, en donde los términos más generales siempre que se utilicen, independientemente unos de otros, pueden ser reemplazados por definiciones más específicas o, por consiguiente, siguen definiendo modalidades más detalladas de la invención:

"Alquilo" se refiere a una fracción de hidrocarburo completamente saturado ramificado o no ramificado que tiene hasta 20 átomos de carbono. A menos que se disponga de otra manera, alquilo se refiere a las fracciones de hidrocarburo que tienen de 1 a 7 átomos de carbono (alquilo-C_{1-7}), o de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo-C_{1-4}). Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo normal, iso-propilo, butilo normal, butilo secundario, iso-butilo, butilo terciario, pentilo normal, iso-pentilo, neopentilo, hexilo normal, 3-metil-hexilo, 2,2-dimetil-pentilo, 2,3-dimetil-pentilo, heptilo normal, octilo normal, nonilo normal, decilo normal, y similares. Un alquilo sustituido es un grupo alquilo que contiene uno o más, tal como uno, dos o tres sustituyentes seleccionados a partir de los grupos halógeno, hidroxilo, o alcoxilo. Alquilo sustituido por halógeno y alcoxilo sustituido por halógeno, pueden ser de de cadena recta o ramificada e incluyen metoxilo, etoxilo, difluoro-metilo, trifluoro-

metilo, pentafluoro-etilo, difluoro-metoxilo, trifluoro-metoxilo, y similares.

“Arilo" significa un ensamble de anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene de seis a diez átomos de carbono del anillo. Por ejemplo, arilo puede ser fenilo o naftilo, de preferencia fenilo. “Arileno” significa un radical divalente derivado a partir de un grupo arilo.

“Heteroarilo" es como se define para arilo anteriormente, en donde uno o más de los miembros del anillo es un heteroátomo. Por ejemplo, heteroarilo de 5 a 10 átomos de carbono es de un mínimo de 5 miembros como sea indicado por los átomos de carbono, pero que estos átomos de carbono pueden ser reemplazados por un heteroátomo. En consecuencia, heteroarilo de 5 a 10 átomos de carbono incluye piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzo-furanilo, benzo-piranilo, benzo-tiopiranilo, benzo-[1,3]-dioxol, imidazolilo, benzo-imidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

"Cicloalquilo” significa un ensamble de anillos monocíclico, bicíclico fusionado, o policíclico puenteado, saturado o parcialmente insaturado, que contiene el número de átomos del anillo indicado. Por ejemplo, cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, etc.

“Heterocicloalquilo” significa cicloalquilo, como se define en

esta solicitud, en el entendido de que uno o más de los átomos de carbono del anillo indicados, son reemplazados por una fracción seleccionada a partir de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o $-S(O)_2-$, en donde R es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o un grupo protector de nitrógeno. Por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, como se utiliza en esta solicitud para describir los compuestos de la invención, incluye morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro-[4.5]-dec-8-ilo, tiomorfolino, sulfano-morfolino, sulfono-morfolino, etc.

"Halógeno" (o halo) de preferencia representa cloro o flúor, pero también puede ser bromo o yodo.

“SHP2” significa “fosfatasa de homología con Src 2” y también es conocida como SH-PTP2, SH-PTP3, Syp, PTP1D, PTP2C, SAP-2 o PTPN11.

Los cánceres que alojan “mutaciones de PTPN11” incluyen, pero no se limitan a: N58Y; D61Y, V; E69K; A72V, T, D; E76G, Q, K (ALL); G60A; D61Y; E69V; F71K; A72V; T73I; E76G, K; R289G; G503V (AML); G60R, D61Y, V, N; Y62D; E69K; A72T, V; T73I; E76K, V, G, A, Q; E139D; G503A, R; Q506P (JMML); G60V; D61V; E69K; F71L; A72V; E76A (MDS); Y63C (CMML); Y62C; E69K; T507K (neuroblastoma); V46L; N58S; E76V (cáncer de pulmón); R138Q (melanoma); E76G (cáncer de colon).

Los compuestos de la fórmula I pueden tener diferentes formas isoméricas. Por ejemplo, cualquier átomo de carbono

asimétrico puede estar presente en la configuración (R), (S), o (R,S), de preferencia en la configuración (R) o (S). Los sustituyentes en un doble enlace o en especial en un anillo, pueden estar presentes en la forma cis (= Z-) o trans (= E-). Los compuestos, por lo tanto, pueden estar presentes como mezclas de isómeros o de preferencia como los isómeros puros, de preferencia como los diaestereómeros puros o los enantiómeros puros.

Cuando se utiliza la forma plural (por ejemplo, compuestos, sales), ésta incluye al singular (por ejemplo, un solo compuesto, una sola sal). “Un compuesto” no excluye que esté presente (por ejemplo, en una formulación farmacéutica) más de un compuesto de la fórmula I (o de una sal del mismo), representando el "un" meramente el artículo indefinido. Por consiguiente, “uno” de preferencia se puede leer como "uno o más”, menos preferiblemente de una manera alternativa como “uno”.

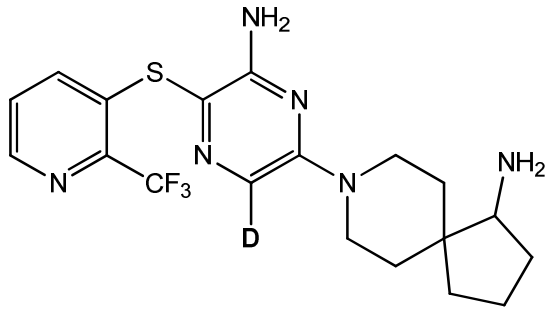
Siempre que se mencione un compuesto o los compuestos de la fórmula I, esto también pretende incluir además los N-óxidos de estos compuestos y/o los tautómeros de los mismos.

El término ”y/o un N-óxido del mismo, un tautómero del mismo, y/o una sal (de preferencia farmacéuticamente aceptable) del mismo” en especial significa que un compuesto de la fórmula I puede estar presente como tal o en mezcla con su N-óxido, como el tautómero (por ejemplo, debido al tautomerismo de ceto-enol, lactama-lactima, amida-ácido imídico, o enamina-imina) o en

mezcla con su tautómero (por ejemplo, reacción de equivalencia causada por su tautómero), o como una sal del compuesto de la fórmula I y/o cualquiera de estas formas o las mezclas de dos o más de estas formas.

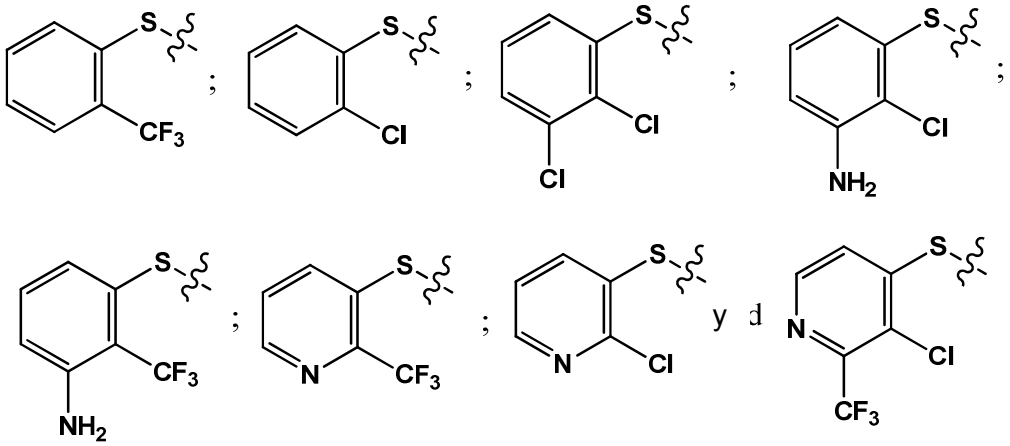
La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de la invención, o de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Una variación isotópica de un compuesto de la invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se define como una en donde cuando menos un átomo es reemplazado por un átomo que tenga el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica usualmente encontrada en la naturaleza. Los ejemplos de los isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención y en las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyen, pero no se limitan a, los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{17}O, ^{18}O, ^{35}S, ^{18}F, ^{36}Cl y ^{123}I. Ciertas variaciones isotópicas de los compuestos de la invención y de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, aquéllas en donde se incorpora un isótopo radioactivo, tal como ^{3}H o ^{14}C, son útiles en los estudios de distribución de fármacos y/o de sustratos en el tejido. En los ejemplos particulares, se pueden utilizar los isótopos de ^{3}H y ^{14}C por su facilidad de preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isótopos, tales como ^{2}H, puede proporcionar ciertas ventajas

terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, tal como una mayor vida media *in vivo* o requerimientos de dosificación reducida. Las variaciones isotópicas de los compuestos de la invención o de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden preparar en términos generales mediante los procedimientos convencionales utilizando las variaciones isotópicas apropiadas de los reactivos adecuados. Por ejemplo, un compuesto de la invención pueden existir en una forma deuterada como se muestra a continuación:

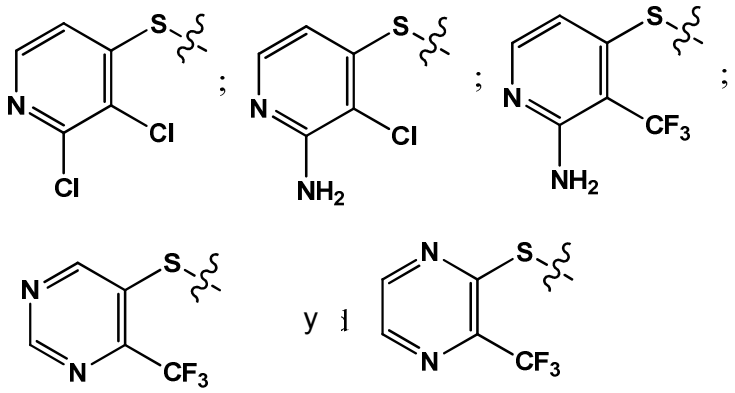


DESCRIPCIÓN DE LAS MODALIDADES PREFERIDAS

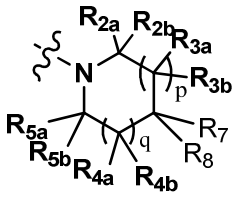
La presente invención se refiere a los compuestos capaces de inhibir la actividad de SHP2. En un aspecto de la invención, con respecto a los compuestos de la fórmula I, $–XR_{1a}$ es $–SR_{1a}$ y se selecciona a partir de:



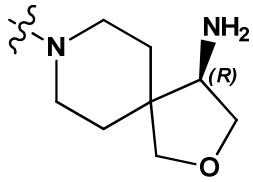
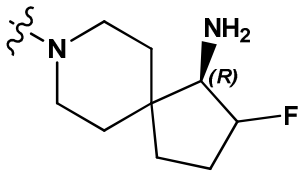
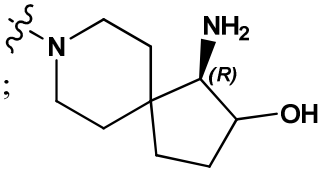
En otro aspecto de la invención, $-XR_{1a}$ es $-SR_{1a}$ y se selecciona a partir de:

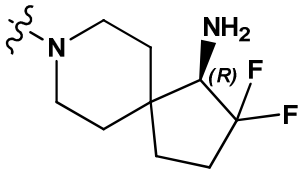
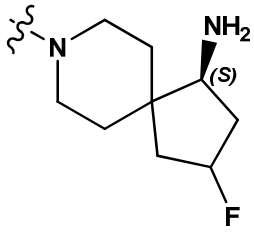
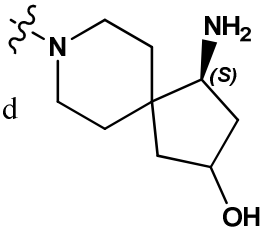


En otro aspecto de la invención, con respecto a los compuestos de la fórmula I:

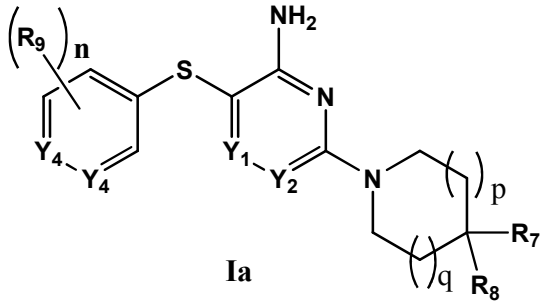


se selecciona a partir de:


;

;

;


;

y d

;

En otro aspecto, con respecto a los compuestos de la fórmula I, están los compuestos de la fórmula Ia:



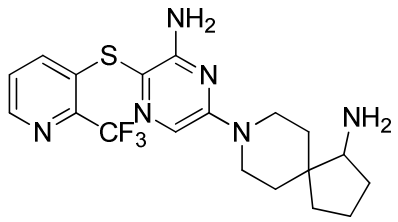
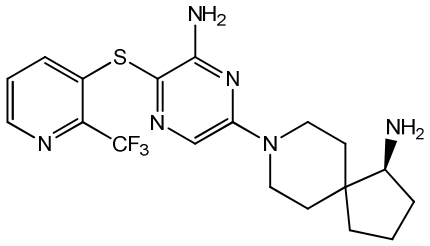
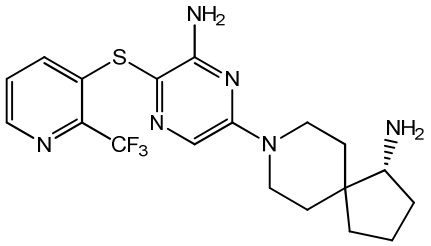
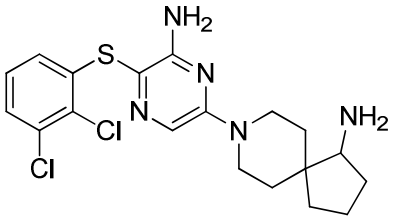
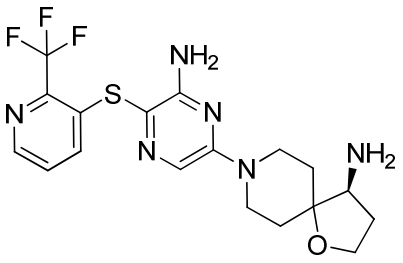
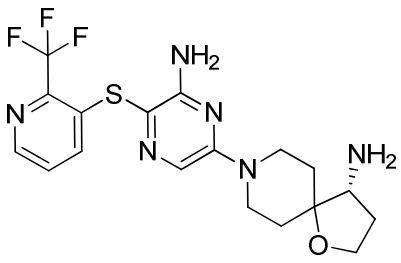
Ia

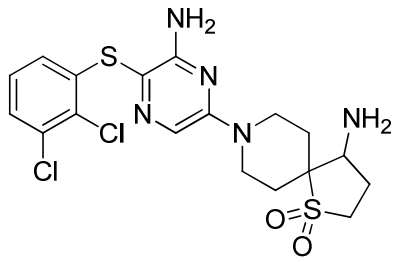
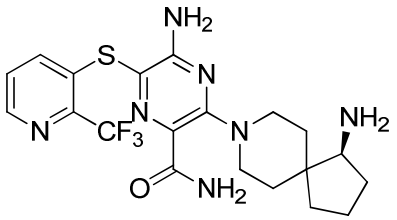
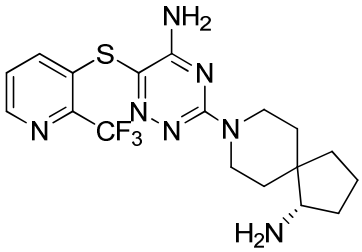
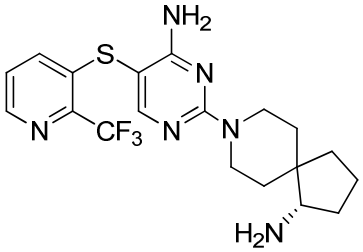
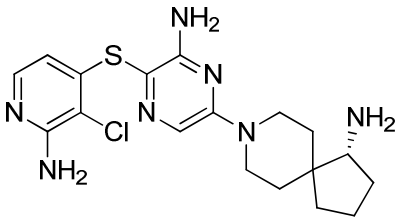
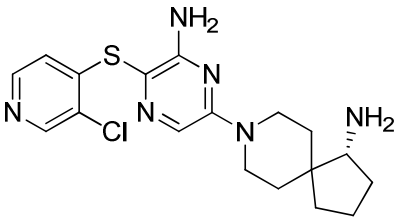
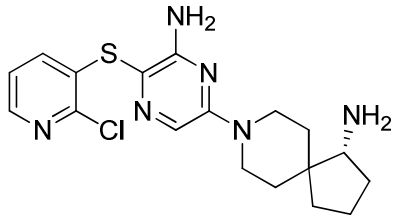
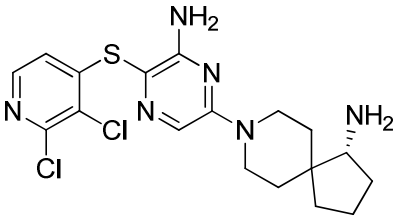
en donde: n se selecciona a partir de 1, 2, 3 y 4; p se selecciona a partir de 0 y 1; q se selecciona a partir de 0 y 1; Y_1 se selecciona a partir de CH y N; Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N; Y_4 se selecciona independientemente a partir de N, C(O), y

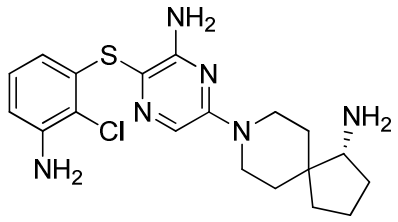
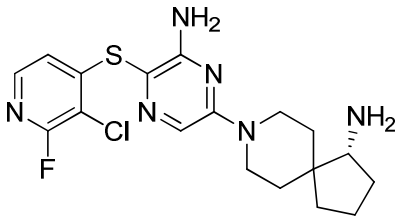
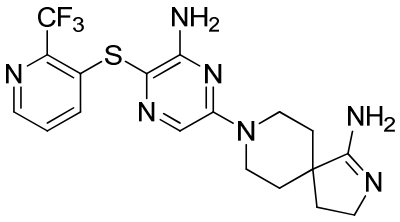
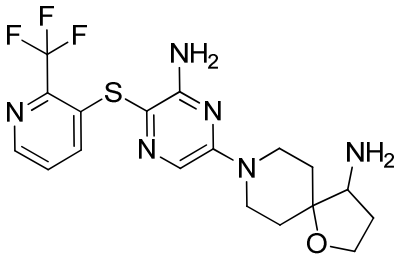
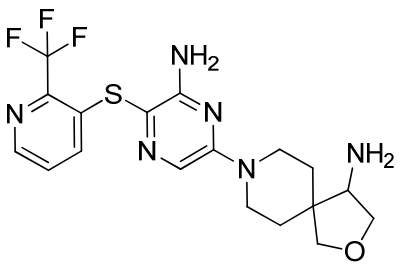
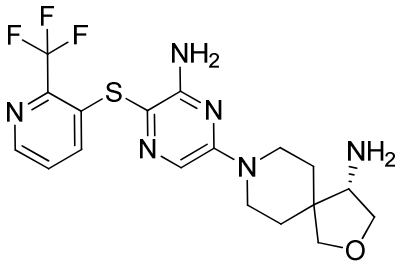
CR_9; en donde solamente un Y_4 es C(O); R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, metilo y amino-carbonilo; R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; R_9 se selecciona a partir de halógeno, amino, dimetil-amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$; R_{10} se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde el fenilo de R_{10} está insustituido o sustituido con metoxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

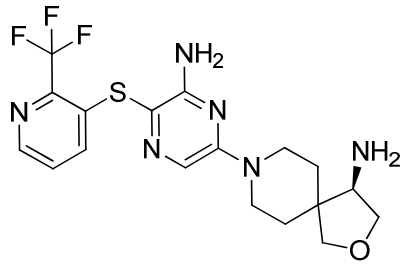
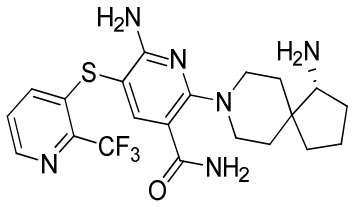
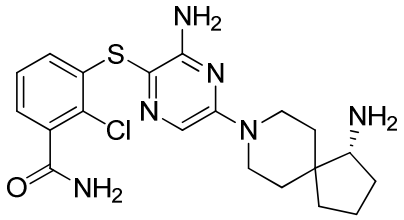
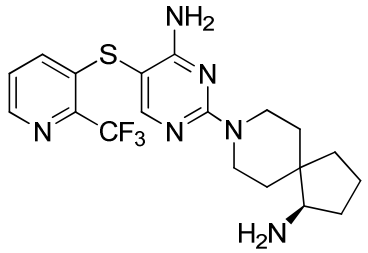
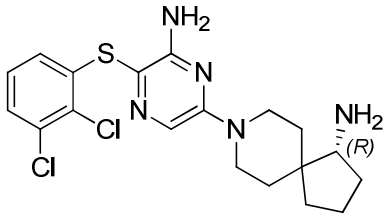
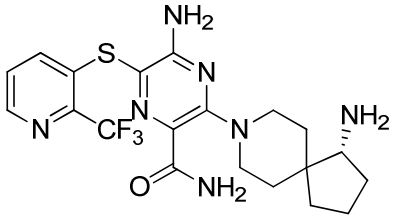
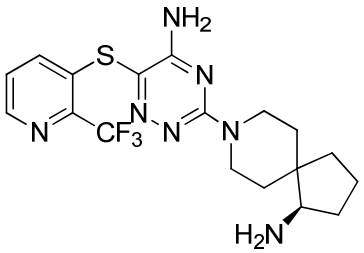
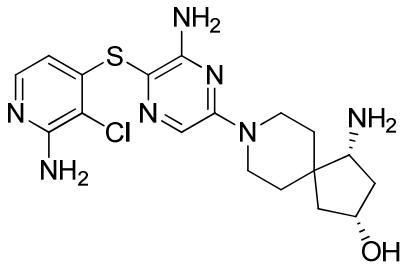
En un aspecto adicional de la invención, R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 5 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente de 1 a 2 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, O, C(O), y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con 1 a 3 grupos independientemente seleccionados a partir de amino, hidroxilo, metoxilo, halógeno, metilo, metil-amino e isobutiriloxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

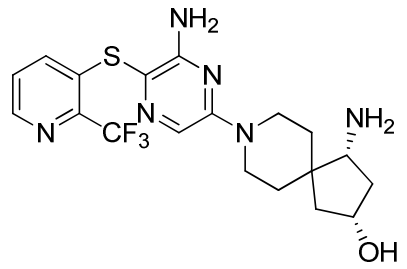
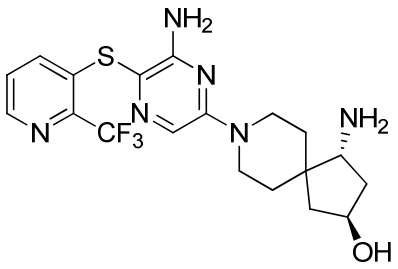
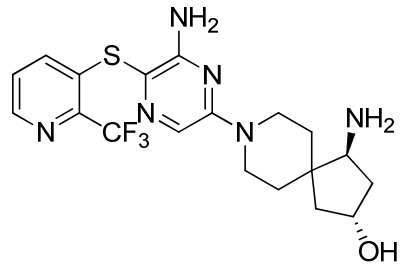
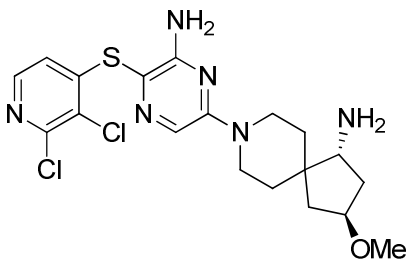
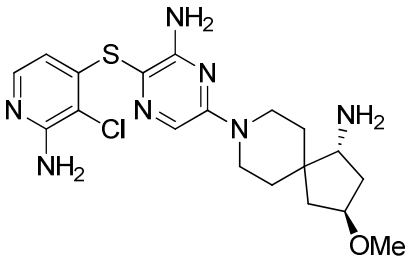
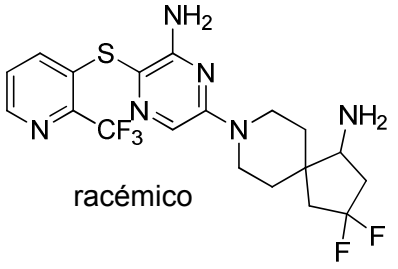
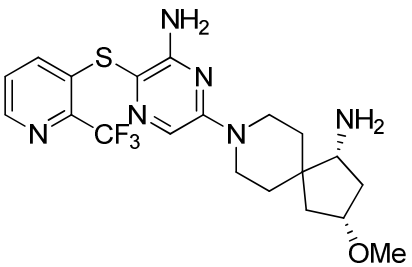
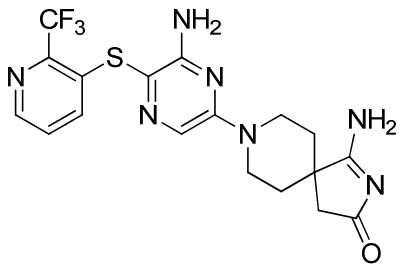
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

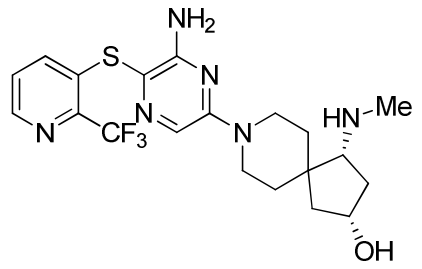
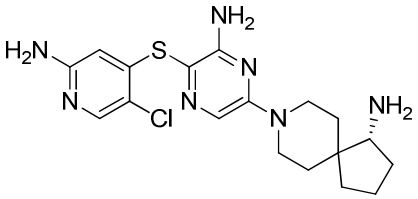
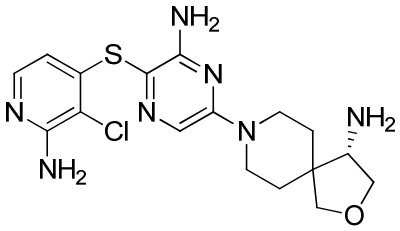
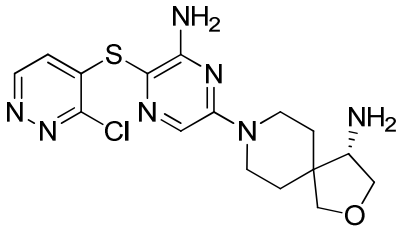
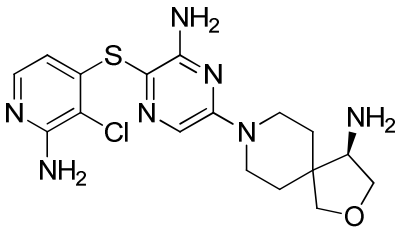
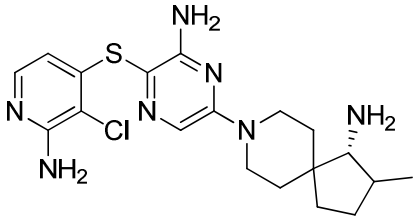
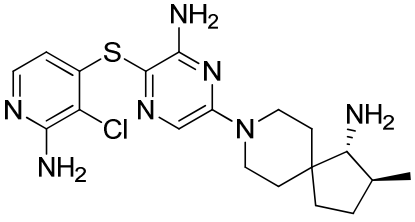
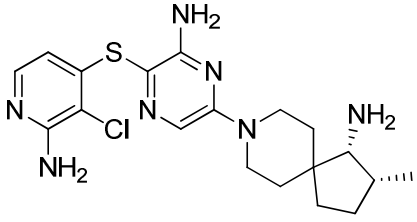
	
	
	

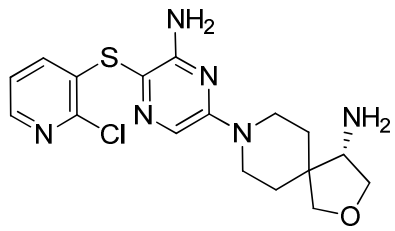
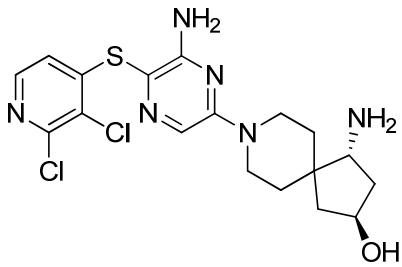
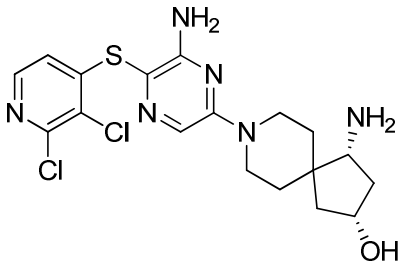
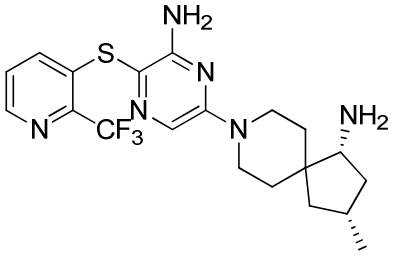
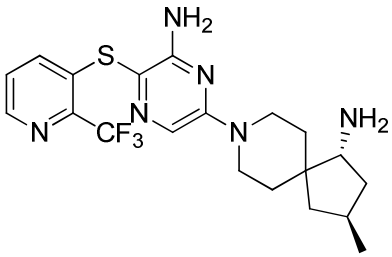
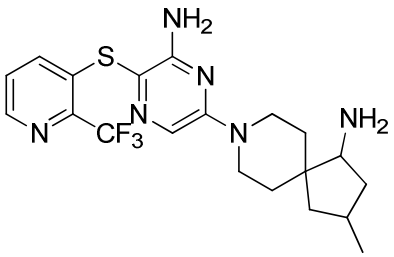
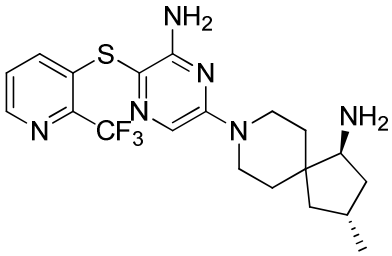
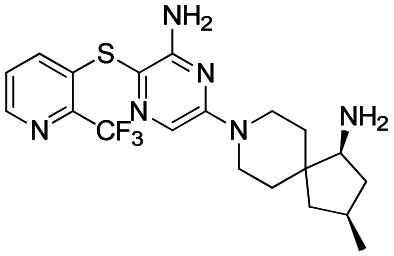
	
	
	
	

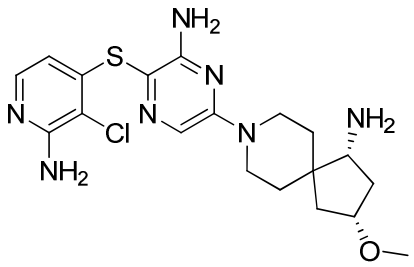
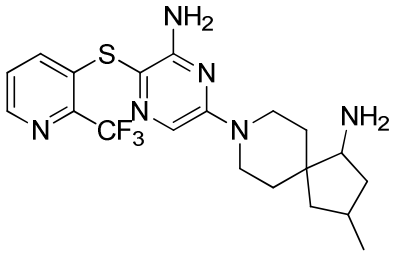
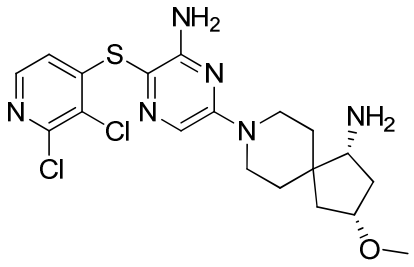
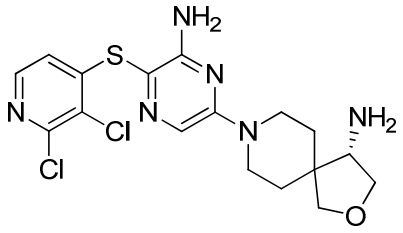
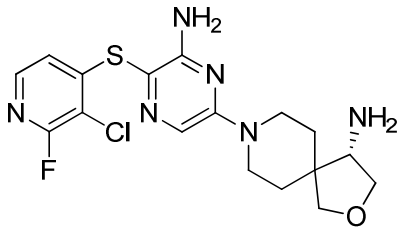
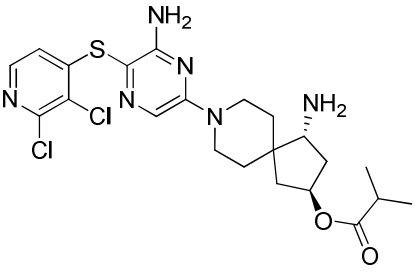
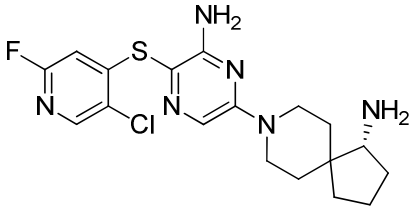
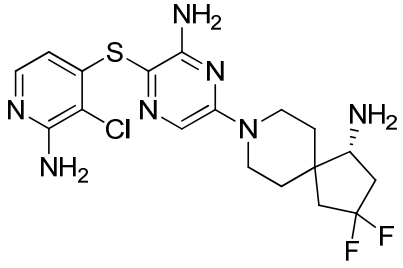
	
	
	

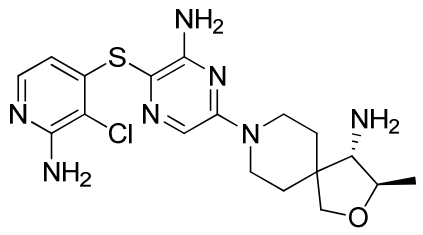
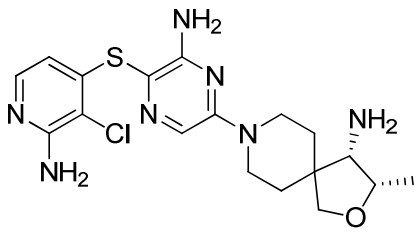
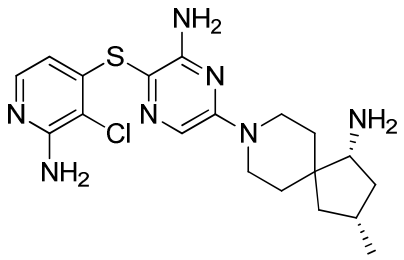
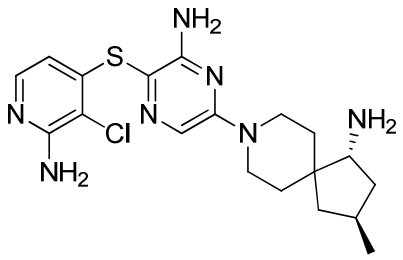
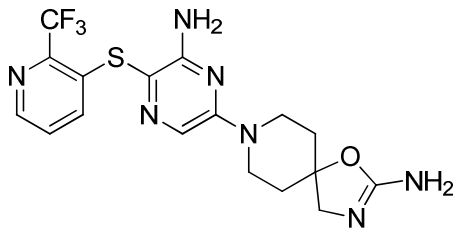
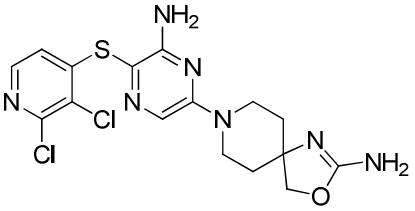
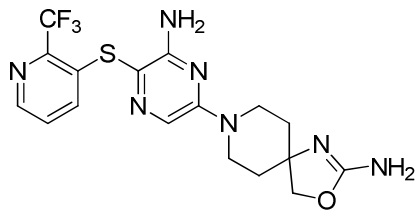
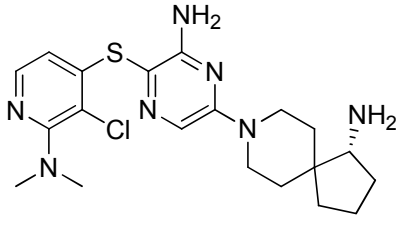
	
	
	
	

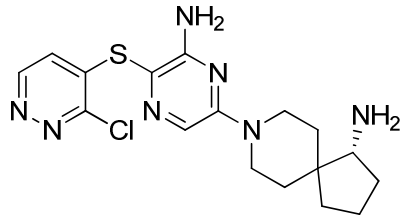
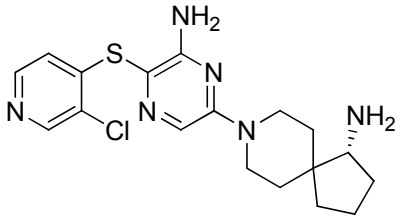
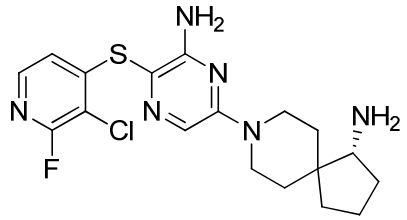
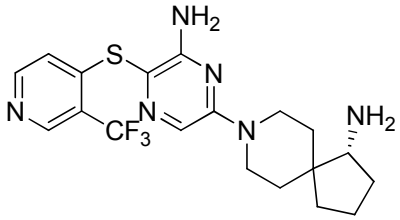
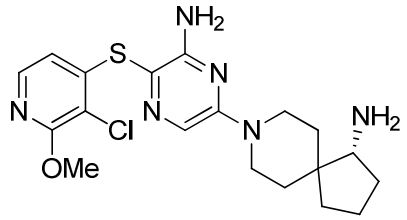
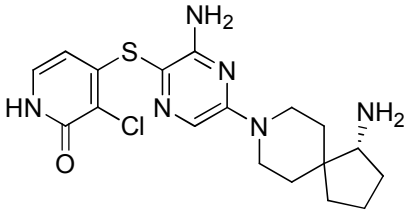
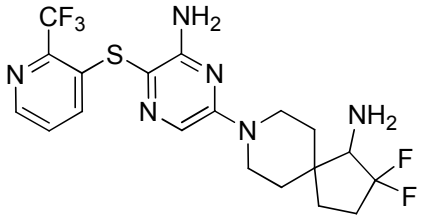
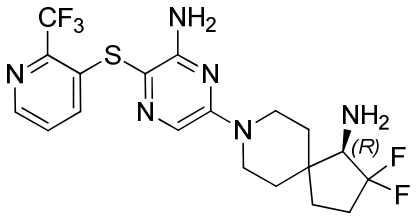
	
	
	 racémico
	

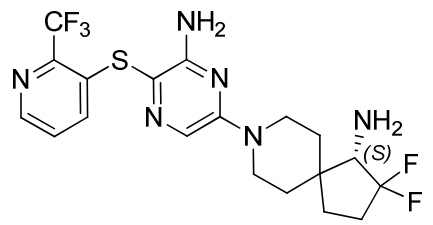
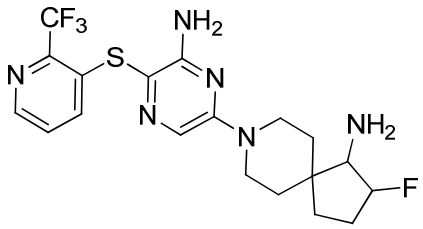
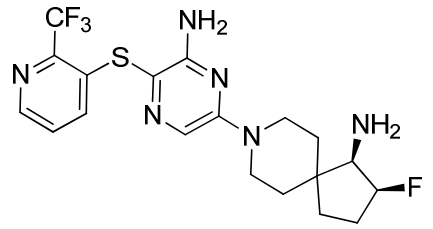
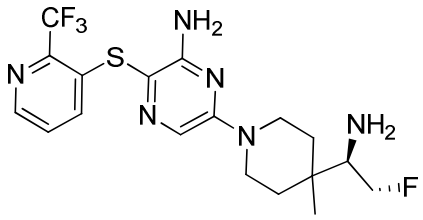
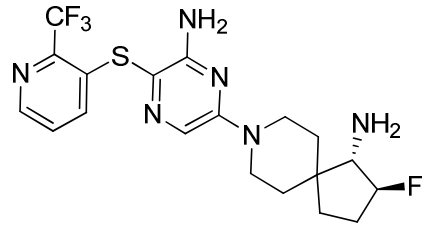
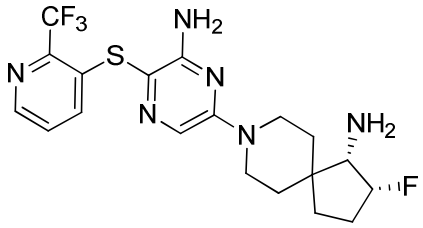
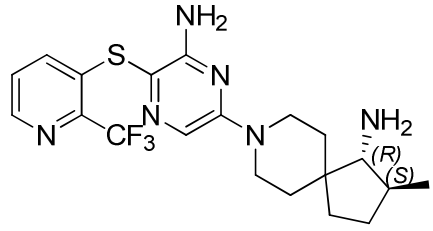
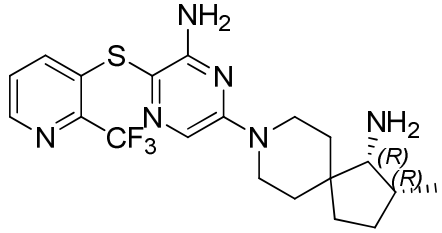
	
	
	
	

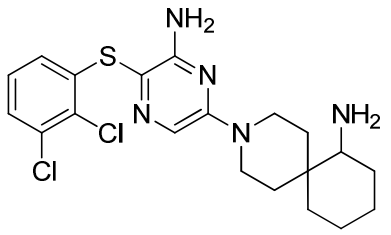
	
	
	
	

En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 6 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

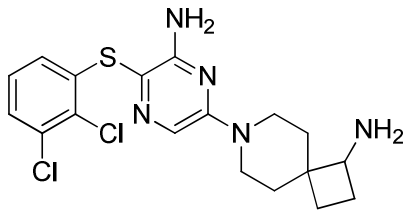
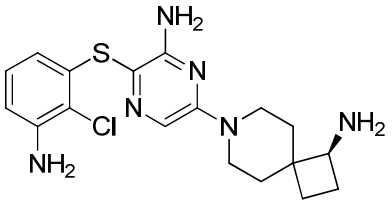
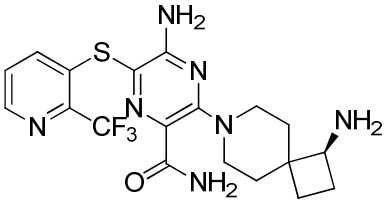
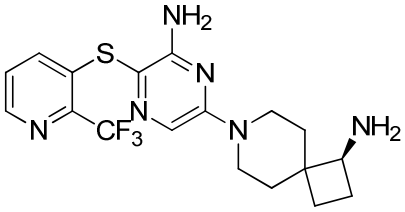
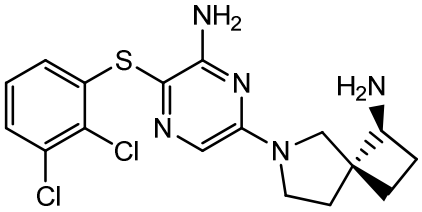
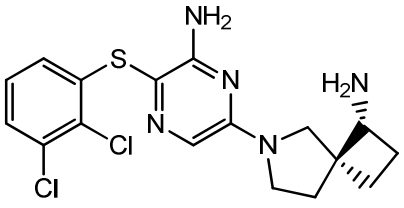
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

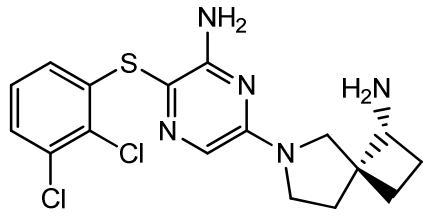
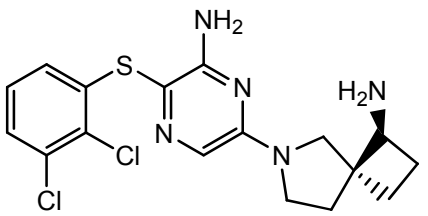
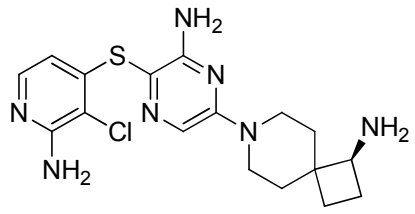
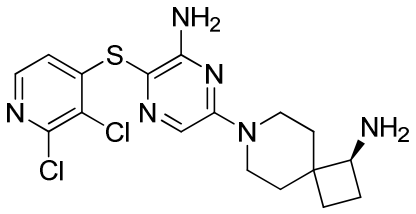
	

En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 4 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m

se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

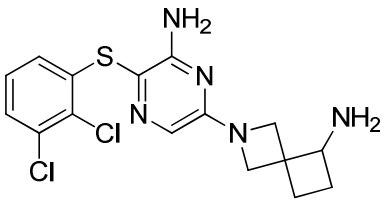
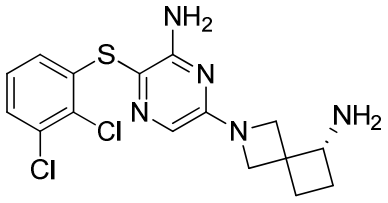
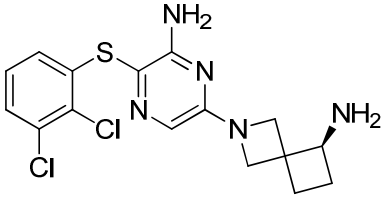
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

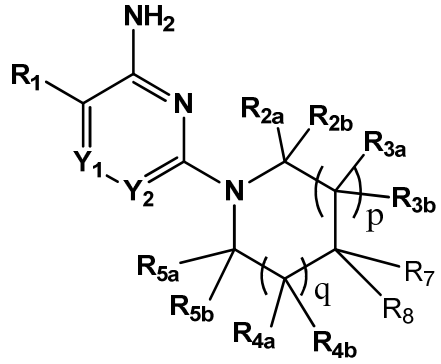
	
	

En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde p y q son ambos 0; o la sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

En otro aspecto de la invención están los compuestos de la fórmula II:



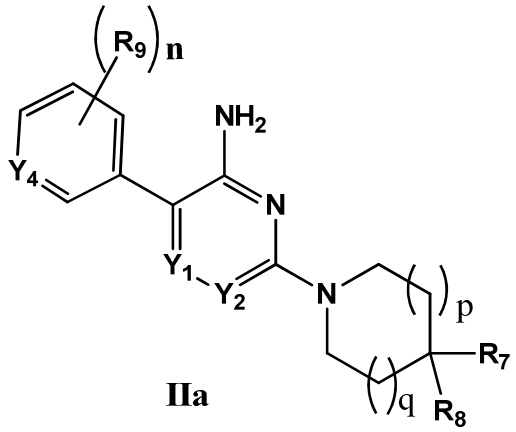
II

en donde: p se selecciona a partir de 0 y 1; q se selecciona a partir de 0 y 1; Y_1 se selecciona a partir de CH y N; Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N; R_1 se selecciona a partir de arilo de 6 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, cicloalquenilo de 3 a 8 átomos de carbono y un grupo heteroarilo de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S; en donde este arilo o heteroarilo de R_{1a} está sustituido con 1 a 5 grupos R_9 independientemente seleccionados a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; cada R_{10a} y R_{10b} se selecciona independientemente a partir de halógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y R_{11} se selecciona a partir de

hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; R_{2a} y R_{2b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{3a} y R_{3b} se seleccionan independientemente a partir de halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{4a} y R_{4b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino; en donde cualesquiera dos grupos seleccionados a partir de R_{2a}, R_{3a}, R_4, R_5, R_{6a} y R_{7a} pueden formar un anillo de 5 a 6 miembros insaturado o parcialmente insaturado; R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino-carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, y alquilo de 1 a 4

átomos de carbono sustituido por amino; R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En un aspecto adicional de la invención están los compuestos de la fórmula IIa:



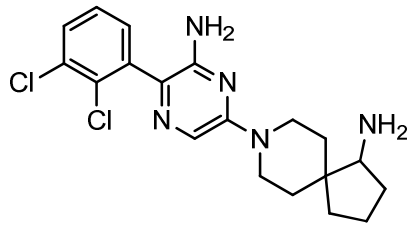
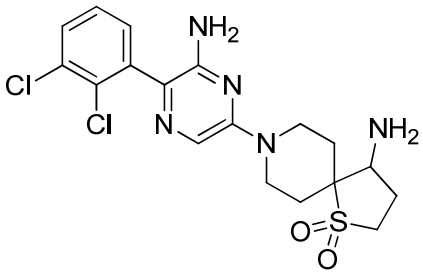
IIa

en donde: n se selecciona a partir de 1, 2, 3 y 4; p se selecciona a partir de 0 y 1; q se selecciona a partir de 0 y 1; Y_1 se selecciona a partir de CH y N; Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N; Y_4 se selecciona a partir de N y CR_9; R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, metilo y amino-carbonilo; R_7 y R_8 junto

con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; R_9 se selecciona a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$; R_{10} se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde el fenilo de R_{10} está insustituido o sustituido con metoxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

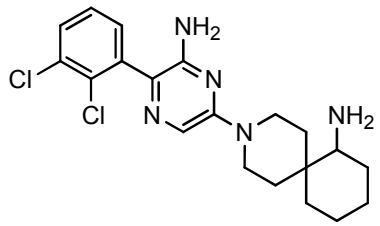
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo saturado de 5 miembros que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

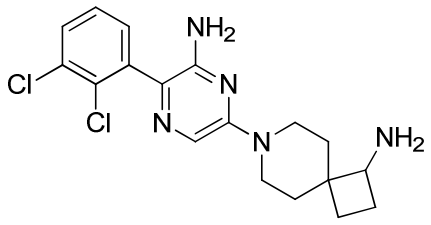
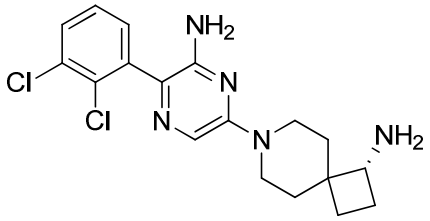
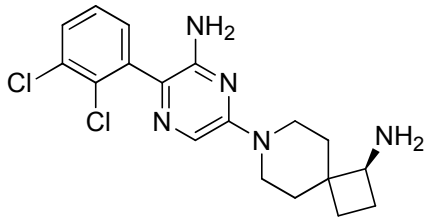
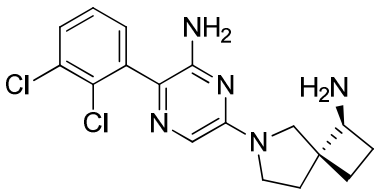
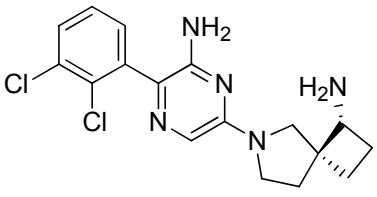
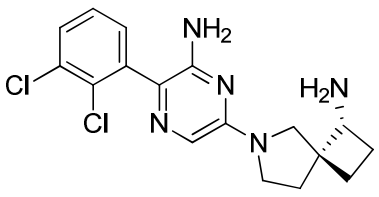
En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo saturado de 6 miembros que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

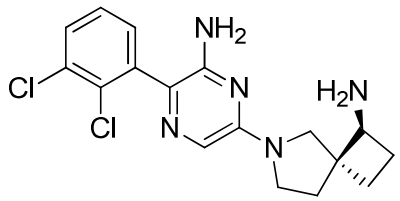
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo saturado de 4 miembros que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con amino; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

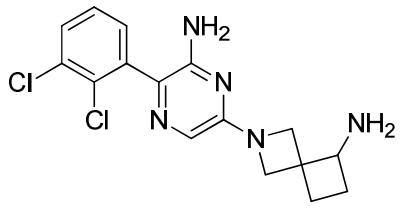
En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

En otro aspecto de la invención están los compuestos en donde p y q son ambos 0; o la sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En un aspecto adicional de la invención están los compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados a partir de:

Farmacología y Utilidad

La fosfatasa de homología con Src 2 (SHP2) es una fosfatasa de tirosina de las proteínas codificada por el gen PTPN11 que contribuye a múltiples funciones celulares, incluyendo proliferación, diferenciación, mantenimiento del ciclo celular y migración. La SHP2 está involucrada en la señalización a

través de las sendas de la cinasa de proteína activada por mitógeno Ras, de JAK–STAT, o de la cinasa de fosfoinositol 3-AKT. La SHP2 media activación de las cinasas MAP Erkl y Erk2 (Erkl/2, Erk) mediante las cinasas de tirosina receptoras, tales como ErbBl, ErbB2 y c-Met.

La SHP2 tiene dos dominios de homología con Src 2 N-terminales (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP), y una cola C-terminal. Los dos dominios SH2 controlan la localización subcelular y la regulación funcional de SHP2. La molécula existe en una conformación inactiva, inhibiendo su propia actividad por medio de una red de enlace que involucra residuos a partir de ambos dominios N-SH2 y PTP. En respuesta al factor de estimulación del crecimiento, la SHP2 se enlaza a los sitios fosforilados con tirosina específicos sobre las proteínas de atraque tales como Gab1 y Gab2 por medio de sus dominios SH2. Esto induce un cambio de conformación que da como resultado la activación de SHP2.

Se han identificado mutaciones en PTPN11 en varias enfermedades humanas, tales como síndrome de Noonan, síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda, y cánceres de mama, pulmón y colon. SHP2 es una molécula de señalización importante corriente abajo para una variedad de cinasas de tirosina receptoras, incluyendo los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-R), del factor de

crecimiento de fibroblastos (FGF-R), y del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R). SHP2 también es una molécula de señalización importante corriente abajo para la activación de la senda de cinasa de proteína activada por mitógeno (MAP), la cual puede conducir a la transformación celular, un requisito previo para el desarrollo de cáncer. La eliminación genética de SHP2 inhibió significativamente el crecimiento celular de las líneas celulares de cáncer de pulmón con mutación de SHP2 o translocalizaciones de EML4/ALK, así como los cánceres de mama y los cánceres esofágicos amplificados por el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). La SHP2 también se activa corriente abajo de los oncogenes en el carcinoma gástrico, linfoma macrocelular anaplásico y glioblastoma.

Síndrome de Noonan (NS) y Síndrome de Leopard (LS) – las mutaciones de PTPN11 provocan LS (múltiples lentigenes, anormalidades de la conducción electrocardiográfica, hipertelorismo ocular, estenosis pulmonar, genitalia anormal, retardación de crecimiento, sordera neurosensorial), y NS (anomalías congénitas incluyendo defectos cardíacos, anormalidades craneofaciales y estatura corta). Ambos trastornos son parte de una familia de síndromes dominantes autosómicos causados por mutaciones de la línea germinal en los componentes de la senda de cinasa de proteína activadora de mitógeno RAS/RAF/MEK/ERK, requeridos para el crecimiento y la diferenciación celular normal. La regulación aberrante de esta

senda tiene profundos efectos, en particular sobre el desarrollo cardíaco, que da como resultado diversas anormalidades, incluyendo defectos valvuloseptales y/o cardiomiopatía hipertrófica (HCM). Las perturbaciones de la senda de señalización de MAPK han sido establecidas como centrales para estos trastornos y se han identificado varios genes candidatos a lo largo de esta senda en los seres humanos, incluyendo mutaciones en KRAS, NRAS, SOS1, RAF1, BRAF, MEK1, MEK2, SHOC2, y CBL. El gen más comúnmente mutado en NS y LS es PTPN11. Las mutaciones de la línea germinal en PTPN11 (SHP2) se encuentran en aproximadamente el 50 por ciento de los casos con NS y casi todos los pacientes con LS que comparten ciertas características con NS. Para NS, las sustituciones Y62D e Y63C en la proteína son en gran parte invariantes y están entre las mutaciones más comunes. Ambas de estas mutaciones afectan a la conformación catalíticamente inactiva de SHP2 sin perturbar el enlace de la fosfatasa a sus componentes de señalización fosforilados.

Leucemias mielomonocíticas juveniles (JMML) - Las mutaciones somáticas en PTPN11 (SHP2) se presentan en aproximadamente el 35 por ciento de los pacientes con JMML, un trastorno mieloproliferativo infantil (MPD). Estas mutaciones de ganancia de función son típicamente mutaciones puntuales en el dominio N-SH2 o en el dominio de fosfatasa, que impiden la auto-inhibición entre el dominio catalítico y el dominio N-SH2, lo cual da como resultado la actividad de SHP2.

Leucemia mieloide aguda – Las mutaciones de PTPN11 se han identificado en: aproximadamente el 10 por ciento de las leucemias agudas pediátricas, tales como síndrome mielodisplásico (MDS); aproximadamente el 7 por ciento de leucemia linfoblástica aguda de células-B (B-ALL); y aproximadamente el 4 por ciento de leucemia mieloide aguda (AML).

Las mutaciones de NS y leucemia provocan cambios en los aminoácidos localizados en la interfase formada por los dominios N-SH2 y PTP en la conformación de SHP2 auto-inhibida, alterando la interacción intramolecular inhibidora, y conduciendo a la hiperactividad del dominio catalítico.

La SHP2 actúa como un regulador positivo en la señalización de la cinasa de tirosina receptora (RTK). Los cánceres que contienen alteraciones de RTK ($EGFR^{amp}$, $Her2^{amp}$, $FGFR^{amp}$, Met^{amp}, RTK translocalizada/activada, es decir, ALK, BCR/ABL) incluyen Los cánceres esofágico, de mama, pulmón, colon, gástrico, glioma, de cabeza y cuello.

El cáncer esofágico es una malignidad del esófago. Hay diversos subtipos, primordialmente cáncer de células escamosas (<50 por ciento) y adenocarcinoma. Hay un alto índice de expresión de RTK en el adenocarcinoma esofágico y en el cáncer de células escamosas. Por consiguiente, se puede emplear un inhibidor de SPH2 de la invención para las estrategias de tratamiento innovadoras.

El cáncer de mama es un importante tipo de cáncer y una causa primordial de muerte en las mujeres, en donde las pacientes desarrollan resistencia a los fármacos actuales. Hay cuatro mayor subtipos de cánceres de mama, incluyendo luminal A, luminal B, tipo Her2, y triple negativo/tipo basal. El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es un agresivo cáncer de mama que carece de una terapia dirigida específica. El receptor del factor de crecimiento epidérmico I (EGFR) emergió como un objetivo prometedor en el cáncer de mama triple negativo (TNBC). La inhibición de Her2 así como del receptor del factor de crecimiento epidérmico I (EGFR) por medio de SHP2 puede ser una terapia prometedora en el cáncer de mama.

El cáncer de pulmón – NSCLC (cáncer pulmonar no microcelular) es actualmente una importante causa de mortalidad relacionada con cáncer. Contando por aproximadamente el 85 por ciento de los cánceres pulmonares (predominantemente adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas). Aunque la quimioterapia citotóxica sigue siendo una parte importante del tratamiento, las terapias dirigidas basadas en alteraciones genéticas, tales como EGFR y ALK en el tumor tienen más probabilidades de beneficiarse de una terapia dirigida.

Cáncer de colon – Se sabe que de aproximadamente el 30 por ciento al 50 por ciento de los tumores colo-rectales tienen un *KRAS* mutado (anormal), y se presentan mutaciones de BRAF en el 10 al 15 por ciento de los cánceres colo-rectales. Para un

subconjunto de pacientes cuyos tumores colo-rectales han demostrado que sobre-expresan los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), estos pacientes exhiben una respuesta clínica favorable a la terapia anti-EGFR.

El cáncer gástrico es uno de los tipos de cáncer más prevalecientes. Se conoce en la materia la expresión aberrante de las cinasas de tirosina, como es reflejado por la fosforilación de tirosina aberrante en las células de cáncer gástrico. Tres cinasas de tirosina receptoras, c-*met (receptor de HGF)*, receptor de FGF 2, y *erbB2/neu,* con frecuencia se amplifican en los carcinomas gástricos. Por consiguiente, la subversión de diferentes sendas de señales puede contribuir al progreso de diferentes tipos de cánceres gástricos.

El neuroblastoma es un tumor pediátrico del sistema nervioso simpático en desarrollo, contando por aproximadamente el 8 por ciento de los cánceres infantiles. Se ha postulado que las alteraciones genómicas del gen de cinasa de linfoma anaplásico (ALK) contribuyen a la patogénesis del neuroblastoma.

Carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas (SCCHN). Los altos niveles de expresión de los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) están correlacionados con un mal pronóstico y con la resistencia a la terapia de radiación en una variedad de cánceres, en su mayor parte en el carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas (SCCHN). El bloqueo de la señalización de los receptores del factor de

crecimiento epidérmico (EGFR) da como resultado la inhibición de la estimulación del receptor, la proliferación celular, y una invasividad y metástasis reducidas. Los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), por consiguiente, son un objetivo primario para la nueva terapia contra el cáncer en el carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas (SCCHN).

La presente invención se refiere a los compuestos capaces de inhibir la actividad de SHP2. La invención proporciona además un proceso para la preparación de los compuestos de la invención y las preparaciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos. Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para el tratamiento de los trastornos mediados por SHP2, el cual comprende el paso de administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I como se define en la Breve Descripción de la Invención.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde los trastornos mediados por SHP2 son los cánceres seleccionados a partir de, pero no limitándose a: JMML; leucemia mieloblástica aguda (AML); MDS; B-ALL; neuroblastoma; esofágico; cáncer de mama; cáncer de pulmón; cáncer de colon; cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de otras enfermedades o condiciones

relacionadas con la actividad aberrante de SHP2. Por consiguiente, como un aspecto adicional, la invención se refiere a un método para el tratamiento de un trastorno seleccionado a partir de: NS; LS; JMML; leucemia mieloblástica aguda (AML); MDS; B-ALL; neuroblastoma; esofágico; cáncer de mama; cáncer de pulmón; cáncer de colon; cáncer gástrico; cáncer de cabeza y cuello.

Un inhibidor de SPH2 de la presente invención se puede combinar útilmente con otro compuesto farmacológicamente activo, o con dos o más compuestos farmacológicamente activos diferentes, en particular en el tratamiento de cáncer. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define anteriormente, se puede administrar de una manera simultánea, en secuencia o por separado, en combinación con uno o más agentes seleccionados a partir de agentes de quimioterapia, por ejemplo, inhibidores mitóticos, tales como un taxano, un alcaloide vinca, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina o vinflunina, y otros agentes contra el cáncer, por ejemplo, cisplatina, 5-fluoro-uracilo o 5-fluoro-2,4-(1H,3H)-pirimidinadiona (5FU), flutamida o gemcitabina.

Estas combinaciones pueden ofrecer ventajas significativas, incluyendo una actividad sinérgica, en terapia.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el compuesto

mencionado se administra parenteralmente.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el compuesto mencionado se administra intramuscularmente, intravenosamente, subcutáneamente, oralmente, pulmonarmente, intratecalmente, tópicamente o intranasalmente.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el compuesto mencionado se administra sistémicamente.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el paciente es un mamífero.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el paciente es un primate.

En ciertas modalidades, la presente invención se refiere al método anteriormente mencionado, en donde el paciente es un ser humano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el tratamiento de un trastorno mediado por SHP2, el cual comprende el paso de: administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente quimioterapéutico en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I como se define en la Breve Descripción de la Invención.

Composiciones Farmacéuticas

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos descritos anteriormente, formulado junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe con detalle más adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquéllas adecuadas para las siguientes: (1) administración oral, por ejemplo, purgas (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), tabletas, por ejemplo, aquéllas destinadas para absorción bucal, sublingual, y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para su aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento, o un parche de liberación controlada o una aspersión aplicada a la piel; (4) intravaginalmente o intra-rectalmente, por ejemplo, como u pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; (8) nasalmente; (9) pulmonarmente; o (10) intratecalmente.

La frase "cantidad terapéuticamente efectiva", como se utiliza en la presente, significa la cantidad de un compuesto,

material, o de una composición que comprende un compuesto de la presente invención, la cual es efectiva para producir algún efecto terapéutico deseado en cuando menos una sub-población de las células en un animal, en una proporción razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente para referirse a los compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que, dentro del alcance de un buen juicio médico, son adecuados para utilizarse en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, de una manera conmensurada con una proporción razonable de beneficio/riesgo.

La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente, significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno líquido o sólido, diluyente, excipiente, auxiliar de elaboración (por ejemplo, lubricante, talco, magnesio, calcio o estearato de zinc, o ácido esteárico), o material encapsulante de solvente, involucrado en la portación o el transporte del compuesto objeto desde un órgano o una porción del cuerpo, hasta otro órgano u otra porción del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de los materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente

aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboxi-metil-celulosa de sodio, etil-celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuate, aceite de semilla de algodón, aceite de azafrán, aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de semilla de soya; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua sin pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras del pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en las formulaciones farmacéuticas.

Como se estipula anteriormente, ciertas modalidades de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino, o alquil-amino, y, por consiguiente, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" con respecto a esto, se refiere a

las sales de adición de ácido inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* en el vehículo de administración, o en el proceso de elaboración de la forma de dosificación, o mediante la reacción por separado de un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislar la sal formada de esta manera durante la purificación subsiguiente. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y lauril-sulfonato, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y colaboradores (1977) "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos objeto incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, a partir de los ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, estas sales no tóxicas convencionales incluyen aquéllas derivadas a partir de ácidos inorgánicos, tales como clorhidrato, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico,

fenil-acético, glutámico, benzoico, salicíclico, sulfanílico, 2-acetoxi-benzoico, fumárico, toluen-sulfónico, metan-sulfónico, etan-disulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos ácidos funcionales y, por consiguiente, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estas instancias se refiere a las sales de adición de base inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar de la misma manera *in situ* en el vehículo de administración o en el proceso de elaboración de la forma de dosificación, o mediante la reacción por separado del compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de las sales de adición de base incluyen etil-amina, dietil-amina, etilen-diamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y colaboradores, *supra*)

También pueden estar presentes en las composiciones los

agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril-sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como los agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservadores y antioxidantes.

Los ejemplos de los antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio, y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxi-tolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilen-diamina-tetra-acético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquéllas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar, de una manera conveniente, en una forma de dosificación unitaria, y se pueden preparar mediante cualesquiera métodos bien conocidos en la materia de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo del huésped que sea tratado y del modo particular de administración. La cantidad de ingrediente

activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación, en términos generales, será la cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico. En términos generales, del cien por ciento, esta cantidad estará en el intervalo de aproximadamente el 0.1 por ciento a aproximadamente el noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, de preferencia de aproximadamente el 5 por ciento a aproximadamente el 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 30 por ciento.

En ciertas modalidades, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado a partir del grupo que consiste en ciclodextrinas, celulosas, liposomas, agentes formadores de micelios, por ejemplo, ácidos biliares, y vehículos poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas modalidades, una formulación anteriormente mencionada hace que un compuesto de la presente invención sea oralmente biodisponible.

Los métodos para la preparación de estas formulaciones o composiciones incluyen el paso de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación de una manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con los vehículos líquidos, o con los vehículos sólidos finamente

divididos, o con ambos, y entonces, si es necesario, se configura el producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para su administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, pastillas, píldoras, tabletas, grageas (utilizando una base saborizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución, suspensión o dispersión sólida en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elíxir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno conteniendo una cantidad previamente determinada de un compuesto de la presente invención, como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención, para su administración oral (cápsulas, tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos, trociscos, y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o difosfato de calcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) rellenos o extensores, tal como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboxi-metil-celulosa, alginatos, gelatina, polivinil-pirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes,

tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, y tensoactivos, tales como poloxámero y lauril-sulfato de sodio; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol, y tensoactivos no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato de sodio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico, y mezclas de los mismos; (10) agentes colorantes; y (11) agentes de liberación controlada, tales como crospovidona o etil-celulosa. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en las cápsulas de gelatina de cubierta blanda y dura utilizando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

Una tableta se puede hacer mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Las tabletas comprimidas se pueden preparar utilizando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxi-metil-celulosa), diluyente inerte, conservador, desintegrante (por ejemplo, glicolato de almidón de

sodio o carboxi-metil-celulosa de sodio reticulada), agente de actividad superficial o de dispersión. Las tabletas moldeadas se pueden hacer mediante el moldeo, en una máquina adecuada, de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Las tabletas, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos, opcionalmente se pueden marcar o preparar con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos hemisféricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También se pueden formular para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en las mismas, utilizando, por ejemplo, hidroxi-propil-metil-celulosa en diferentes proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para liberación rápida, por ejemplo, se pueden secar por congelación. Se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o en algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de usarse. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y pueden ser de una composición tal que liberen los ingredientes activos solamente, o preferencialmente, en cierta

porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente en una forma retardada. Los ejemplos de las composiciones de empotramiento que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en una forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más excipientes anteriormente descritos.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elíxires farmacéuticamente aceptables. En adición al ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en este campo, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilen-glicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuate, de maíz, de germen, de oliva, de ricino, y de ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilen-glicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes, y conservadores.

Las suspensiones, en adición a los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión, como por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de sorbitol y de sorbitán de polioxietileno, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, el cual se puede preparar mediante la mezcla de uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilen-glicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que sean sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a la temperatura corporal, y por consiguiente, que se fundan en el recto o en la cavidad vaginal y liberen el compuesto activo.

Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones en aerosol que contengan los vehículos que son conocidos en la materia como apropiados.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches, e inhalantes. El compuesto activo se puede

mezclar bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera conservadores, reguladores del pH, o propelentes que se puedan requerir.

Los ungüentos, pastas, cremas, y geles pueden contener, en adición a un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilen-glicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco, y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y aerosoles pueden contener, en adición a un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente los propelentes acostumbrados, tales como cloro-fluoro-hidrocarburos, e hidrocarburos insustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Estas formas de dosificación se pueden hacer mediante la disolución o dispersión del compuesto en el medio apropiado. También se pueden utilizar potenciadores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de este flujo se puede controlar ya sea proporcionando una membrana de control de velocidad, o bien dispersando el compuesto activo en una matriz polimérica o en un

gel.

Las formulaciones oftálmicas, los ungüentos, los polvos, soluciones, y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se puedan reconstituir hasta soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usarse, las cuales pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, reguladores del pH, bacteriostáticos, solutos que hagan a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido, o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de los vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de

tensoactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como conservadores, agentes humectantes, agentes emulsionantes, y agentes de dispersión. Se puede asegurar la prevención de la acción de los microorganismos sobre los presentes compuestos mediante la inclusión de diferentes agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, cloro-butanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares, en las composiciones. En adición, se puede provocar una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que demoren la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el objeto de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable hacer más lenta la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de un material cristalino o amorfo que tenga una pobre solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, la cual, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. De una manera alternativa, se lleva a cabo la absorción demorada de una forma de fármaco parenteralmente administrada mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectable se hacen mediante la

formación de matrices microencapsuladas de los presentes compuestos en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción del fármaco al polímero, y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli-(orto-ésteres) y poli-(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan mediante el atrape del fármaco en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con el tejido corporal.

Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos a seres humanos y animales, se pueden dar por sí mismos o como una composición farmacéutica que contenga, por ejemplo, del 0.1 al 99 por ciento (más preferiblemente, del 10 al 30 por ciento) del ingrediente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las preparaciones de la presente invención se pueden dar oralmente, parenteralmente, tópicamente, o rectalmente. Desde luego, se dan en las formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en tabletas o en la forma de cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción para los ojos, ungüento, supositorio, etc., administración mediante inyección, infusión o inhalación; administración tópica mediante loción o ungüento; y administración rectal mediante supositorios.

Se prefiere la administración oral.

Las frases "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", como se utilizan en la presente, significan los modos de administración diferentes de la administración enteral y tópica, usualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, e intraesternal.

Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica", y "administrado periféricamente", como se utilizan en la presente, significan la administración de un compuesto, fármaco, u otro material, diferente de hacerlo directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entre al sistema del paciente y, por lo tanto, se someta al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.

Estos compuestos se pueden administrar a seres humanos y a otros animales para terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo oralmente, nasalmente, como por ejemplo, mediante un aerosol, rectalmente, intravaginalmente, parenteralmente, intracisternalmente, y tópicamente, mediante polvos, ungüentos o gotas, incluyendo bucalmente y sublingualmente.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, los cuales se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante los métodos convencionales conocidos por los expertos en este campo.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición, y modo de administración particulares, sin que sean tóxicos para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o del éster, sal, o amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción o el metabolismo del compuesto particular empleado, la velocidad y el grado de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos, y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, el sexo, el peso, la condición, la salud general y la historia médica previa del paciente que se esté tratando, y factores similares bien conocidos en el ámbito médico.

Un médico o veterinario que tenga una experiencia ordinaria en la materia puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica en niveles más bajos que los requeridos, con el objeto de lograr el efecto terapéutico deseado, y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logre el efecto deseado.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será la cantidad del compuesto que sea la dosis más baja efectiva para producir un efecto terapéutico. Esta dosis efectiva dependerá en general de los factores descritos anteriormente. En términos generales, las dosis oral, intravenosa, intracerebro-ventricular y subcutánea de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utilicen para los efectos analgésicos indicados, estarán en el intervalo de aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal al día.

Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas por separado a intervalos apropiados a través de todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitaria. La dosificación preferida es una administración al día.

Aunque es posible que un compuesto de la presente invención se administre solo, es preferible administrar el

compuesto como una formulación (composición) farmacéutica.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden formular para su administración en cualquier forma conveniente para utilizarse en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros productos farmacéuticos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los presentes compuestos, como se describe anteriormente, formulados junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como se describe con detalle más adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquéllas adaptadas para las siguientes: (1) administración oral, por ejemplo, líquidos (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), tabletas, bolos, polvos, gránulos, pastas para su aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o aspersión aplicada a la piel, pulmones, o membranas mucosas; o (4) intravaginalmente o intra-rectalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente o bucalmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; u (8) nasalmente.

El término "tratamiento" pretende abarcar también la profilaxis, terapia y curación.

El paciente que reciba este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluyendo primates, en particular, los seres humanos, y otros mamíferos, tales como equinos, reses, cerdos y ovejas; y aves de corral y mascotas en general.

El compuesto de la invención se puede administrar como tal o en mezclas con vehículos farmacéuticamente aceptables y también se puede administrar en conjunto con agentes antimicrobianos, tales como penicilinas, cefalosporinas, aminoglicósidos y glicopéptidos. La terapia conjunta, por consiguiente, incluye la administración en secuencia, simultánea y separada del compuesto activo de una manera en que no desaparezcan enteramente los efectos terapéuticos del primer compuesto administrado cuando se administre el siguiente.

La tecnología de microemulsión puede mejorar la biodisponibilidad de algunos agentes farmacéuticos lipofílicos (insolubles en agua). Los ejemplos incluyen Trimetrina (Dordunoo, S. K. y colaboradores, Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991 y REV 5901 (Sheen, P. C., y colaboradores, J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Entre otras cosas, la microemulsión proporciona una mejor biodisponibilidad al dirigir preferencialmente la absorción hacia el sistema linfático en lugar del sistema circulatorio, desviándose de esta manera del hígado, y previniendo la destrucción de los compuestos en la

circulación hepatobiliar.

Aunque se contemplan todos los vehículos anfifílicos adecuados, los vehículos actualmente preferidos son en términos generales aquéllos que tengan el estado de generalmente reconocidos como seguros (GRAS), y que puedan tanto solubilizar el compuesto de la presente invención como microemulsionarlo en una etapa posterior cuando la solución entre en contacto con una fase de agua compleja (tal como una encontrada en el tracto gastro-intestinal humano). Usualmente, los ingredientes anfifílicos que satisfacen estos requerimientos tienen valores de HLB (balance hidrofílico a lipofílico) de 2 a 20, y sus estructuras contienen radicales alifáticos de cadena recta en el intervalo de 6 a 20 átomos de carbono. Los ejemplos son los glicéridos grasos polietilenglicolizados y los polietilenglicoles.

Se contemplan en particular los vehículos anfifílicos comercialmente disponibles, incluyendo la serie Gelucire, Labrafil, Labrasol, o Lauroglicol (todos elaborados y distribuidos por Gattefosse Corporation, Saint Priest, Francia), mono-oleato de PEG, di-oleato de PEG, mono-laurato y di-laurato de PEG, Lecitina, Polisorbato 80, etc. (producidos y distribuidos por un número de compañías en EUA y en todo el mundo).

Los polímeros hidrofílicos adecuados para utilizarse en la presente invención son aquéllos que sean fácilmente solubles en agua, que se puedan unir de una manera covalente a un lípido formador de vesículas, y que sea tolerados *in vivo* sin efectos

tóxicos (es decir, que sean biocompatibles). Los polímeros adecuados incluyen polietilenglicol (PEG), ácido poliláctico (también denominado como poliláctido), ácido poliglicólico (también denominado como poliglicólido), un copolímero de ácido poliláctico-poliglicólico, y poli-alcohol vinílico. Los polímeros preferidos son aquéllos que tienen un peso molecular de aproximadamente 100 o 120 Dáltones hasta aproximadamente 5,000 o 10,000 Dáltones, y de una manera más preferible de aproximadamente 300 Dáltones a aproximadamente 5,000 Dáltones. En una modalidad particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 5,000 Dáltones, y de una manera más preferible que tiene un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 5,000 Dáltones. En una modalidad particularmente preferida, el polímero es polietilenglicol de 750 Dáltones (PEG(750)). Los polímeros también se pueden definir por el número de monómeros en los mismos; una modalidad preferida de la presente invención utiliza polímeros de cuando menos aproximadamente 3 monómeros, tales como polímeros de PEG consistentes en tres monómeros (de aproximadamente 150 Dáltones).

Otros polímeros hidrofílicos que pueden ser adecuados para utilizarse en la presente invención incluyen polivinil-pirrolidona, poli-metoxazolina, poli-etil-oxazolina, poli-hidroxi-propil-metacrilamida, poli-metacrilamida, poli-dimetil-acrilamida, y las

celulosas derivadas, tales como hidroxi-metil-celulosa o hidroxi-etil-celulosa.

En ciertas modalidades, la formulación de la presente invención comprende un polímero biocompatible seleccionado a partir del grupo que consiste en poliamidas, policarbonatos, polialquilenos, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, polímeros de polivinilo, poliglicólidos, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, celulosas, polipropileno, polietilenos, poliestireno, polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poli(ácido butílico), poli-(ácido valérico), poli-(láctido-co-caprolactona), polisacáridos, proteínas, poli-ácidos hialurónicos, poli-ciano-acrilatos, y mezclas o copolímeros de los mismos.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos, consistentes en 6, 7, u 8 unidades de glucosa, designadas por las letras griegas alfa, beta, o gamma, respectivamente. No se sabe que existan ciclodextrinas con menos de 6 unidades de glucosa. Las unidades de glucosa están enlazadas mediante enlaces alfa-1,4-glucosídicos. Como una consecuencia de la conformación de la cadena de las unidades de azúcar, todos los grupos hidroxilo secundario (en C-2, C-3) se localizan sobre un lado del anillo, mientras que todos los grupos hidroxilo primario en C-6 están situados sobre el otro lado. Como un resultado, las caras externas son hidrofílicas, haciendo que las ciclodextrinas sean solubles en agua. En contraste, las cavidades de las ciclodextrinas son

hidrofóbicas, debido a que están revestidas por el hidrógeno de los átomos C-3 y C-5, y por los oxígenos tipo éter. Estas matrices permiten formar complejos con una variedad de compuestos relativamente hidrofóbicos, incluyendo, por ejemplo, compuestos esteroideos, tales como 17.beta-estradiol (ver, por ejemplo, van Uden y colaboradores, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38:1-3-113 (1994)). La formación de complejo tiene lugar mediante interacciones de Van der Waals, y mediante la formación del enlace de hidrógeno. Para una revisión general de la química de las ciclodextrinas, ver Wenz, Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:803-822 (1994).

Las propiedades fisicoquímicas de los derivados de ciclodextrina dependen mucho de la clase y del grado de sustitución. Por ejemplo, su solubilidad en agua está en el intervalo desde insoluble (por ejemplo, triacetil-beta-ciclodextrina) hasta 147 por ciento soluble (peso/volumen) (G-2-beta-ciclodextrina). En adición, son solubles en muchos solventes orgánicos. Las propiedades de las ciclodextrinas hacen posible controlar la solubilidad de diferentes componentes de la formulación mediante el aumento o la disminución de su solubilidad.

Se han descrito numerosas ciclodextrinas y los métodos para su preparación. Por ejemplo, Parmeter (I) y colaboradores (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,453,259), y Gramera y colaboradores (Patente de los Estados

Unidos de Norteamérica Número 3,459,731), describieron las ciclodextrinas electroneutras. Otros derivados incluyen las ciclodextrinas con propiedades catiónicas [Parmeter (II), Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,453,257], las ciclodextrinas reticuladas insolubles (Sohms, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,420,788), y las ciclodextrina con propiedades aniónicas [Parmeter (III), Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,426,011]. Entre los derivados de ciclodextrina con propiedades aniónicas, se han adjuntado a la ciclodextrina progenitora los ácidos carboxílicos, ácidos fosforosos, ácidos fosfinosos, ácidos fosfónicos, ácidos fosfóricos, ácidos tiofosfónicos, ácidos tiosulfínicos, y ácidos sulfónicos [ver Parmeter (III), *supra*]. Adicionalmente, los derivados de sulfoalquil-éter-ciclodextrina han sido descritos por Stella y colaboradores (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,134,217).

Los liposomas consisten en cuando menos una membrana de bicapa de lípido que encierra a un compartimiento interno acuoso. Los liposomas se pueden caracterizar por el tipo de membrana y por el tamaño. Las vesículas unilamelares pequeñas (SUVs) tienen una sola membrana, y típicamente están en el intervalo de entre 0.02 y 0.05 micras de diámetro; las vesículas unilamelares grandes (LUVs) son típicamente mayores de 0.05 micras. Las vesículas grandes oligolamelares y las vesículas multilamelares tienen múltiples capas de membrana, normalmente concéntricas, y

son típicamente mayores de 0.1 micras. Los liposomas con varias membranas no concéntricas, es decir, varias vesículas más pequeñas contenidas dentro de una vesícula más grande, se denominan como vesículas multivesiculares.

Un aspecto de la presente invención se refiere a las formulaciones que comprenden liposomas, las cuales contienen un compuesto de la presente invención, en donde la membrana del liposoma se formula para proporcionar a un liposoma una mayor capacidad portadora. De una manera alternativa o en adición, el compuesto de la presente invención puede estar contenido dentro, o adsorbido sobre, la bicapa del liposoma. El compuesto de la presente invención se puede acumular con un tensoactivo de lípido, y puede ser portado dentro del espacio interno del liposoma; en estos casos, la membrana del liposoma se formula para resistir los efectos alteradores del aglomerado de agente activo-tensoactivo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la bicapa de lípido de un liposoma contiene lípidos derivados con polietilenglicol (PEG), de tal manera que la cadena de PEG se extiende desde la superficie interna de la bicapa de lípido hacia el espacio interno encapsulado por el liposoma, y se extiende desde el exterior de la bicapa de lípido hasta el medio ambiente circundante.

Los agentes activos contenidos dentro de los liposomas de la presente invención están en una forma solubilizada. Los

agregados de tensoactivo y agente activo (tales como emulsiones o micelios que contengan al agente activo de interés) se pueden atrapar dentro del espacio interno de los liposomas de acuerdo con la presente invención. Un tensoactivo actúa para dispersar y solubilizar al agente activo, y se puede seleccionar a partir de cualquier tensoactivo alifático, cicloalifático o aromático adecuado, incluyendo, pero no limitándose a, las lisofosfatidil-colinas (LPCS) biocompatibles de diferentes longitudes de cadena (por ejemplo, de aproximadamente 14 átomos de carbono a aproximadamente 20 átomos de carbono). También se pueden utilizar lípidos derivados de polímero, tales como lípidos de PEG, para la formación de los micelios, debido a que actuarán para inhibir la fusión del micelio/membrana, y debido a que la adición de un polímero a las moléculas de tensoactivo reduce la CMC del tensoactivo y ayuda a la formación del micelio. Se prefieren los tensoactivos con CMCs en el intervalo micromolar; se pueden utilizar tensoactivos con CMC más alta para preparar los micelios atrapados dentro de los liposomas de la presente invención; sin embargo, los monómeros del tensoactivo de micelios podrían afectar a la estabilidad de la bicapa del liposoma, y serían un factor en el diseño de un liposoma de una estabilidad deseada.

Los liposomas de conformidad con la presente invención se pueden preparar mediante cualquiera de una variedad de técnicas conocidas en este campo. Ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,235,871; Solicitud del

TCP Publicada Número WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), páginas 33-104; Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Ámsterdam, 1993.

Por ejemplo, los liposomas de la presente invención se pueden preparar mediante la difusión de un lípido derivado con un polímero hidrofílico en los liposomas preformados, tal como mediante la exposición de los liposomas preformados a los micelios compuestos de polímeros injertados con lípido, en concentraciones de lípido correspondientes al porcentaje molar final del lípido derivado que se desee en el liposoma. También se pueden formar liposomas que contengan un polímero hidrofílico mediante homogeneización, hidratación de campo de lípido, o técnicas de extrusión, como se conocen en este campo.

En un aspecto de la presente invención, los liposomas se preparan para tener tamaños sustancialmente homogéneos en un intervalo de tamaños seleccionado. Un método de dimensionamiento efectivo involucra extruir una suspensión acuosa de los liposomas a través de una serie de membranas de policarbonato que tengan un tamaño de poros uniforme seleccionado; el tamaño de poros de la membrana corresponderá aproximadamente con los tamaños más grandes de los liposomas producidos mediante la extrusión a través de esa membrana. Ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,737,323 (12 de abril de 1988).

Las características de liberación de una formulación de la presente invención dependen del material encapsulante, de la concentración del fármaco encapsulado, y de la presencia de modificadores de liberación. Por ejemplo, la liberación se puede manipular para ser dependiente del pH, por ejemplo utilizando un recubrimiento sensible al pH que se libere solamente en un bajo pH, como en el estómago, o en un pH más alto, como en el intestino. Se puede utilizar un recubrimiento entérico para evitar que ocurra la liberación hasta después de pasar a través del estómago. Se pueden utilizar múltiples recubrimientos o mezclas de cianamida encapsulada en diferentes materiales para obtener una liberación inicial en el estómago, seguida por una liberación posterior en el intestino. La liberación también se puede manipular mediante la inclusión de sales o agentes formadores de poros, los cuales pueden aumentar la absorción de agua o la liberación del fármaco mediante difusión desde la cápsula. También se pueden utilizar excipientes que modifiquen la solubilidad del fármaco para controlar la velocidad de liberación. También se pueden incorporar agentes que mejoren la degradación de la matriz o la liberación desde la matriz. Se pueden agregar al fármaco, se pueden agregar como una fase separada (es decir, como particulados), o se pueden co-disolver en la fase polimérica dependiendo del compuesto. En todos los casos, la cantidad debe ser de entre el 0.1 y el 30 por ciento (peso/peso de polímero). Los tipos de mejoradores de la degradación incluyen las sales inorgánicas,

tales como sulfato de amonio y cloruro de amonio, los ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácido benzoico, y ácido ascórbico; las bases inorgánicas tales como carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de zinc, e hidróxido de zinc; y las bases orgánicas, tales como sulfato de protamina, espermina, colina, etanolamina, dietanolamina, y trietanolamina; y los tensoactivos, tales como Tween® y Pluronic®. Los agentes formadores de poros que agregan microestructura a las matrices (es decir, compuestos solubles en agua tales como sales inorgánicas y azúcares) se agregan como particulados. El intervalo debe estar entre el 1 y el 30 por ciento (peso/peso de polímero).

La absorción también se puede manipular mediante la alteración del tiempo de residencia de las partículas en el intestino. Esto se puede lograr, por ejemplo, recubriendo la partícula con, o seleccionando como el material encapsulante, un polímero adhesivo mucoso. Los ejemplos incluyen la mayoría de los polímeros con grupos carboxilo libres, tales como quitosano, celulosas, y en especial poliacrilatos (como se utilizan en la presente, los poliacrilatos se refieren a los polímeros que incluyen grupos acrilato y grupos acrilato modificados, tales como ciano-acrilatos y metacrilatos).

Combinaciones Farmacéuticas

La invención se refiere en especial al uso de un compuesto de la fórmula I (o de una composición farmacéutica que

comprende un compuesto de la fórmula I) en el tratamiento de una o más de las enfermedades mencionadas en la presente; en donde la respuesta al tratamiento es benéfica, como se demuestra, por ejemplo, por la eliminación parcial o completa de uno o más de los síntomas de la enfermedad hasta llevar a cabo la curación o la remisión.

Un compuesto de la fórmula (I) también se puede utilizar en combinación con los siguientes compuestos y conjugados de anticuerpo-fármaco:

Inhibidores de BCR-ABL: Imatinib (Gleevec®); clorhidrato de Inilotinib; Nilotinib (Tasigna®); Dasatinib (BMS-345825); Bosutinib (SKI-606); Ponatinib (AP24534); Bafetinib (INNO406); Danusertib (PHA-739358), AT9283 (CAS 1133385-83-7); Saracatinib (AZD0530); y *N*-[2-[(1*S*,4*R*)-6-[[4-(ciclobutil-amino)-5-(trifluoro-metil)-2-pirimidinil]-amino]-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1,4-imin-9-il]-2-oxo-etil]-acetamida (PF-03814735, CAS 942487-16-3); y LGX818.

Inhibidores de ALK: PF-2341066 (XALKORI®; crizotinib); 5-cloro-N4-(2-(isopropil-sulfonil)-fenil)-N2-(2-metoxi-4-(4-(4-metil-piperazin-1-il)-piperidin-1-il)-fenil)-pirimidin-2,4-diamina; GSK1838705A; y CH5424802.

Inhibidores de BRAF: Vemurafanib (PLX4032); y Dabrafenib.

FLT3 inhibidores – malato de sunitinib (vendido bajo el nombre comercial Sutent® por Pfizer); PKC412 (midostaurina); tanutinib, sorafenib, sunitinib, midostaurina, lestaurtinib, KW-

2449, quizartinib (AC220), y crenolanib.

Inhibidores de MEK – trametinib.

Inhibidores de los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): Bevacizumab (vendido bajo la marca comercial registrada Avastin® por Genentech/Roche), axitinib, (N-metil-2-[[3-[(E)-2-piridin-2-il-etenil]-1H-indazol-6-il]-sulfanil]-benzamida, también conocida como AG013736, y descrita en la Publicación Internacional del TCP Número WO 01/002369), alaninato de Brivanib ((S)((R)-2-amino-propanoato de 1-(4-(4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-iloxi)-5-metil-pirrolo-[2,1-f][1,2,4]-triazin-6-iloxi)-propan-2-ilo), también conocido como BMS-582664), motesanib (N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinil-metil)-amino]-3-piridin-carboxamida, y descrita en la Publicación Internacional del TCP Número WO 02/066470), pasireotida (también conocida como SOM230, y descrita en la Publicación Internacional del TCP Número WO 02/010192), sorafenib (vendido bajo el nombre comercial Nexavar®);

Inhibidores del receptor de HER2: Trastuzumab (vendido bajo la marca comercial registrada Herceptin® por Genentech/Roche), neratinib (también conocido como HKI-272, (2E)-N-[4-[[3-cloro-4-[(piridin-2-il)-metoxi]-fenil]-amino]-3-ciano-7-etoxi-quinolin-6-il]-4-(dimetil-amino)-but-2-enamida, y descrita la Publicación Internacional del TCP Número WO 05/028443), lapatinib o ditosilato de lapatinib (vendido bajo la marca comercial registrada Tykerb® por GlaxoSmithKline); Trastuzumab emtansina

(en los Estados Unidos, ado-trastuzumab emtansina, nombre comercial Kadcyla) - un conjugado de anticuerpo-fármaco que consiste en el anticuerpo monoclonal trastuzumab (Herceptin) enlazado al agente citotóxico mertansina (DM1);

Anticuerpos CD20: Rituximab (vendido bajo las marcas comerciales registradas Riuxan® y MabThera® por Genentech/Roche), tositumomab (vendido bajo las marcas comerciales registradas Bexxar® por GlaxoSmithKline), ofatumumab (vendido bajo la marca comercial registrada Arzerra® por GlaxoSmithKline);

Inhibidores de cinasa de tirosina: clorhidrato de erlotinib (vendido bajo la marca comercial registrada Tarceva® por Genentech/Roche), Linifanib (N-[4-(3-amino-1H-indazol-4-il)-fenil]-N'-(2-fluoro-5-metil-fenil)-urea, también conocida como ABT 869, disponible en Genentech), malato de sunitinib (vendido bajo el nombre comercial Sutent® por Pfizer), bosutinib (4-[(2,4-dicloro-5-metoxi-fenil)-amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propoxi]-quinolin-3-carbonitrilo, también conocido como SKI-606, y descrito en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,780,996), dasatinib (vendido bajo el nombre comercial Sprycel® por Bristol-Myers Squibb), armala (también conocida como pazopanib, vendido bajo el nombre comercial Votrient® por GlaxoSmithKline), imatinib y mesilato de Imatinib (vendidos bajo los nombres comerciales Glivec® y Gleevec® por Novartis);

Inhibidores de la síntesis del ADN: Capecitabina (vendida

bajo la marca comercial registrada Xeloda® por Roche), clorhidrato de gemcitabina (vendida bajo la marca comercial registrada Gemzar® por Eli Lilly and Company), nelarabina ((2R,3S,4R,5R)-2-(2-amino-6-metoxi-purin-9-il)-5-(hidroxi-metil)-oxolano-3,4-diol, vendido bajo los nombres comerciales Arranon® y Atriance® por GlaxoSmithKline);

Agentes antineoplásicos: oxaliplatina (vendida bajo el nombre comercial Eloxatin® por Sanofi-Aventis y descrita en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,169,846);

Inhibidores de los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR): Gefitnib (vendido bajo el nombre comercial Iressa®), N-[4-[(3-cloro-4-fluoro-fenil)-amino]-7-[[(3''S'')-tetra-hidro-3-furanil]-oxi]-6-quinazolinil]-4-(dimetil-amino)-2-butenamida, vendida bajo el nombre comercial Tovok® por Boehringer Ingelheim), cetuximab (vendido bajo el nombre comercial Erbitux® por Bristol-Myers Squibb), panitumumab (vendido bajo el nombre comercial Vectibix® por Amgen);

Inhibidores de la dimerización de HER: Pertuzumab (vendido bajo la marca comercial registrada Omnitarg® por Genentech);

Moduladores del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) humano: Filgrastim (vendido bajo el nombre comercial Neupogen® por Amgen);

Inmunomoduladores: Afutuzumab (disponibles en Roche®), pegfilgrastim (vendido bajo el nombre comercial Neulasta® por

Amgen), lenalidomida (también conocida como CC-5013, vendida bajo el nombre comercial Revlimid®), talidomida (vendida bajo el nombre comercial Thalomid®);

Inhibidores de CD40: Dacetuzumab (también conocido como SGN-40 o huS2C6, disponibles en Seattle Genetics, Inc);

Agonistas de los receptores pro-apoptóticos (PARAs): Dulanermina (también conocida como AMG-951, disponible en Amgen/Genentech);

Antagonistas de Hedgehog: 2-cloro-N-[4-cloro-3-(2-piridinil)-fenil]-4-(metil-sulfonil)-benzamida (también conocida como GDC-0449, y descrita en la Publicación Internacional del TCP Número WO 06/028958);

Inhibidores de PI3K: 4-[2-(1H-indazol-4-il)-6-[[4-(metil-sulfonil)-piperazin-1-il]-metil]-tieno-[3,2-d]-pirimidin-4-il]-morfolina (también conocida como GDC 0941 y descrita en las Publicaciones Internacionales del TCP Números WO 09/036082 y WO 09/055730), 2-metil-2-[4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-il)-2,3-di-hidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil]-propionitrilo (también conocido como BEZ 235 o NVP-BEZ 235, y descrito en la Publicación Internacional del TCP Número WO 06/122806);

Inhibidores de Fosfolipasa A2: Anagrelida (vendida bajo el nombre comercial Agrylin®);

Inhibidores de BCL-2: 4-[4-[[2-(4-cloro-fenil)-5,5-dimetil-1-ciclohexen-1-il]-metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[(1R)-3-(4-morfolinil)-1-[(tiofenil)-metil]-propil]-amino]-3-[(trifluoro-metil)-sulfonil]-fenil]-

sulfonil]-benzamida (también conocida como ABT-263 y descrita en la Publicación Internacional del TCP Número WO 09/155386);

Inhibidores de cinasa de la cinasa activada por mitógeno de las proteínas: XL-518 (Cas No. 1029872-29-4, disponible en ACC Corp.);

Inhibidores de aromatasa: Exemestano (vendido bajo la marca comercial registrada Aromasin® por Pfizer), letrozol (vendido bajo el nombre comercial Femara® por Novartis), anastrozol (vendido bajo el nombre comercial Arimidax®);

Inhibidores de topoisomerasa I: Irinotecano (vendido bajo la marca comercial registrada Camptosar® por Pfizer), clorhidrato de topotecano (vendido bajo el nombre comercial Hycamtin® por GlaxoSmithKline);

Inhibidores de topoisomerasa II: etoposida (también conocida como VP-16 y fosfato de etoposida, vendido bajo los nombres comerciales Toposar®, VePesid® y Etopophos®), teniposida (también conocida como VM-26, vendida bajo el nombre comercial Vumon®);

Inhibidores de mTOR: Temsirolimus (vendido bajo el nombre comercial Torisel® por Pfizer), ridaforolimus (formalmente conocido como deferolimus, dimetil-fosfinato de (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-di-hidroxi-19,30-dimetoxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-aza-triciclo-[30.3.1.$0^{4,9}$]-hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-il]-propil]-2-

metoxi-ciclohexilo, también conocido como AP23573 y MK8669, y descrito en la Publicación Internacional del TCP Número WO 03/064383), everolimus (vendido bajo el nombre comercial Afinitor® por Novartis);

Inhibidores de la resorción ósea osteoclástica: monohidrato de ácido 1-hidroxi-2-imidazol-1-il-fosfono-etil)-fosfónico (vendido bajo el nombre comercial Zometa® por Novartis);

Conjugados de anticuerpo-fármaco CD33: Gemtuzumab ozogamicina (vendida bajo el nombre comercial Mylotarg® por Pfizer/Wyeth);

Conjugados de anticuerpo-fármaco CD22: Inotuzumab ozogamicina (también referida como CMC-544 y WAY-207294, disponibles en Hangzhou Sage Chemical Co., Ltd.);

Conjugados de anticuerpo-fármaco CD20: Ibritumomab tiuxetano (vendido bajo el nombre comercial Zevalin®);

Análogos de somatostatina: octreotida (también conocida como acetato de octreotida, vendido bajo los nombres comerciales Sandostatin® y Sandostatin LAR®);

Interleucina-11 (IL-11) sintética: oprelvequina (vendida bajo el nombre comercial Neumega® por Pfizer/Wyeth);

Eritropoietina sintética: Darbepoetina alfa (vendida bajo el nombre comercial Aranesp® por Amgen);

Inhibidores del activador del receptor para el factor nuclear κ B (RANK),: Denosumab (vendido bajo el nombre comercial Prolia® por Amgen);

Pepticuerpos miméticos de trombopoietina: Romiplostim (vendido bajo el nombre comercial Nplate® por Amgen;

Estimulantes del crecimiento celular: Palifermin (vendido bajo el nombre comercial Kepivance® por Amgen);

Anticuerpos anti-receptores del factor de crecimiento tipo insulina-1 (IGF-1R): Figitumumab (también conocido como CP-751,871, disponible en ACC Corp), robatumumab (CAS No. 934235-44-6);

Anticuerpos anti-CS1: Elotuzumab (HuLuc63, CAS No. 915296-00-3);

Anticuerpos CD52: Alemtuzumab (vendido bajo el nombre comercial Campath®);

Inhibidores de CTLA-4: Tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible en Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206), ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9);

Inhibidores de PD1: Nivolumab (también referido en la presente como MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538, BMS0936558, CAS Registro No: 946414-94-4) como se da a conocer, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 8,008,449, y que tiene una secuencia dada a conocer en la misma (o una secuencia sustancialmente idéntica o similar a la misma, por ejemplo, una secuencia que tiene cuando menos el 85 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por

ciento de identidad o más con la secuencia especificada en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 8,008,449); Pembrolizumab (también referido en la presente como Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 o KEYTRUDA), como se da a conocer, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 8,354,509 y en la Publicación Internacional Número WO 2009/114335, y que tiene una secuencia dada a conocer en las mismas (o una secuencia sustancialmente idéntica o similar a las mismas, por ejemplo, una secuencia que tiene cuando menos el 85 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento de identidad o más con la secuencia especificada en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 8,354,509 y en la Publicación Internacional Número WO2009/ 114335); una inmunoadhesina (por ejemplo, una inmunoadhesina que comprende una porción de enlace extracelular o a PD-1 de PD-LI o PD-L2 fusionado con una región constante (por ejemplo, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina); Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se enlaza a PD1 (Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO2009/101611); y AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune), como se da a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión de PD-L2 Fc que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1; otros inhibidores

de PD-1, por ejemplo, los anticuerpos anti-PD1 que se dan a conocer en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 8,609,089, US 2010028330, y/o US 20120114649.

Inhibidores de PDL1: MSB0010718C (también referido como A09-246-2; Merck Serono) es un anticuerpo monoclonal que se enlaza a PD-L1 y se da a conocer, por ejemplo, en la Publicación Internacional Número WO 2013/0179174, (y que tiene una secuencia sustancialmente idéntica o similar a la misma, por ejemplo, una secuencia que tiene cuando menos el 85 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento de identidad o más alta a la secuencia especificada en la Publicación Internacional Número WO 2013/0179174); y el antagonista de enlace anti-PD-LI seleccionado a partir de YW243.55.S70, MPDL3280A (Genetech/Roche), es un anticuerpo monoclonal IgG1 humano con el Fc optimizado que se enlaza a PD-L1 (MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos para PD-L1 se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 7,943,743 y en la Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 20120039906); MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105 (MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-LI descrito en la Publicación Internacional Número WO2007/005874; el anticuerpo YW243.55.S70 es un anticuerpo anti-PD-LI descrito en la Publicación Internacional Número WO 2010/077634);

Inhibidores de LAG-3: BMS-986016 (también referido como

BMS986016; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal que se enlaza a LAG-3. BMS-986016 y otros anticuerpos anti-LAG-3 humanizados se dan a conocer en La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 2011/0150892, y en las Publicaciones Internacionales Números WO2010/019570 y WO2014/008218;

Agonistas de GITR: los agonistas de GITR de ejemplo incluyen, por ejemplo., proteínas de fusión de GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos anti-GITR bivalentes), tales como, una proteína de fusión de GITR descrita en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 6,111,090, en la Patente Europea Número: 090505B1, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 8,586,023, en las Publicaciones Internacionales del TCP Números: WO 2010/003118 y 2011/ 090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, en Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 7,025,962, en la Patente Europea Número: 1947183B1, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 7,812,135, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 8,388,967, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 8,591,886, en la Patente Europea Número: EP 1866339, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 2011/028683, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 2013/039954, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO2005/007190, en la Publicación Internacional del TCP

Número: WO 2007/133822, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO2005/055808, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 99/40196, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 2001/03720, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO99/20758, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO2006/083289, en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 2005/115451, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número: 7,618,632, y en la Publicación Internacional del TCP Número: WO 2011/051726.

Inhibidores de desacetilasa de histona (HDI): Voninostato (vendido bajo el nombre comercial Zolinza® por Merck).

Los anticuerpos anti-CTLA4 incluyen Tremelimumab (IgG2 anticuerpo monoclonal disponible en Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206); y Ipilimumab (anticuerpo de CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9).

Anticuerpo anti-TIM-3 o el fragmento de enlace al antígeno del mismo.

Agentes alquilantes: Temozolomida (vendida bajo los nombres comerciales Temodar® y Temodal® por Schering-Plough/Merck), dactinomicina (también conocida como actinomicina-D y vendida bajo el nombre comercial Cosmegen®), melfalano (también conocido como L-PAM, L-sarcolisina, y mostaza de fenilalanina, vendida bajo el nombre comercial Alkeran®), altretamina (también conocida como hexametil-

melamina (HMM), vendida bajo el nombre comercial Hexalen®), carmustina (vendida bajo el nombre comercial BiCNU®), bendamustina (vendida bajo el nombre comercial Treanda®), busulfano (vendido bajo los nombres comerciales Busulfex® y Myleran®), carboplatina (vendida bajo el nombre comercial Paraplatin®), lomustina (también conocida como CCNU, vendida bajo el nombre comercial CeeNU®), cisplatina (también conocida como CDDP, vendida bajo los nombres comerciales Platinol® y Platinol®-AQ), clorambucil (vendido bajo el nombre comercial Leukeran®), ciclofosfamida (vendida bajo los nombres comerciales Cytoxan® y Neosar®), dacarbazina (también conocida como DTIC, DIC e imidazol-carboxamida, vendida bajo el nombre comercial DTIC-Dome®), altretamina (también conocida como hexametil-melamina (HMM) vendida bajo el nombre comercial Hexalen®), ifosfamida (vendida bajo el nombre comercial Ifex®), procarbazina (vendida bajo el nombre comercial Matulane®), mecloretamina (también conocida como mostaza de nitrógeno, mustina y clorhidrato de mecloro-etamina, vendido bajo el nombre comercial Mustargen®), estreptozocina (vendida bajo el nombre comercial Zanosar®), tiotepa (también conocida como tiofosfamida, TESPA y TSPA, vendida bajo el nombre comercial Thioplex®;

Modificadores de la respuesta biológica: bacilo calmette-guerin (vendido bajo los nombres comerciales theraCys® y TICE® BCG), denileucina diftitox (vendida bajo el nombre comercial Ontak®);

Antibióticos anti-tumorales: doxorrubicina (vendida bajo los nombres comerciales Adriamycin® y Rubex®), bleomicina (vendida bajo el nombre comercial lenoxane®), daunorrubicina (también conocida como clorhidrato de daunorrubicina, daunomicina, y clorhidrato de rubidomicina, vendido bajo el nombre comercial Cerubidina®), daunorrubicina liposomal (liposoma de citrato de daunorrubicina, vendido bajo el nombre comercial Daunoxome®), mitoxantrona (también conocida como DHAD, vendida bajo el nombre comercial Novantrone®), epirrubicina (vendida bajo el nombre comercial Ellence^{MR}), idarrubicina (vendida bajo los nombres comerciales Idamycin®, Idamycin PFS®), mitomicina C (vendida bajo el nombre comercial Mutamycin®);

Agentes contra microtúbulos: Estramustina (vendida bajo el nombre comercial Emcyl®);

Inhibidores de catepsina K: Odanacatib (también conocido como MK-0822, N-(1-ciano-ciclopropil)-4-fluoro-N^2-{(1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(metil-sulfonil)-bifenil-4-il]-etil}-L-leucinamida, disponible en Lanzhou Chon Chemicals, ACC Corp., y ChemieTek, y descrito en la Publicación Internacional del TCP Número WO 03/075836);

Análogos de epotilona B: Ixabepilona (vendida bajo el nombre comercial Lxempra® por Bristol-Myers Squibb);

Inhibidores de proteína de choque por calor (HSP): Tanespimicina (17-alil-amino-17-desmetoxi-geldanamicina,

también conocida como KOS-953 y 17-AAG, disponible en SIGMA, y descrita en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,261,989);

Agonistas de TpoR: Eltrombopag (vendido bajo los nombres comerciales Promacta® y Revolade® por GlaxoSmithKline);

Agentes anti-mitóticos: Docetaxel (vendido bajo el nombre comercial Taxotere® por Sanofi-Aventis);

Inhibidores de esteroides suprarrenales: amino-glutetimida (vendida bajo el nombre comercial Cytadren®);

Anti-andrógenos: Nilutamida (vendida bajo los nombres comerciales Nilandron® y Anandron®), bicalutamida (vendida bajo el nombre comercial Casodex®), flutamida (vendida bajo el nombre comercial Fulexin^{MR});

Andrógenos: Fluoximesterona (vendida bajo el nombre comercial Halotestin®);

Inhibidores de proteasoma: Bortezomib (vendido bajo el nombre comercial Velcade®);

Inhibidores de CDK1: Alvocidib (también conocido como flovopirdol o HMR-1275, 2-(2-cloro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-[(3S,4R)-3-hidroxi-1-metil-4-piperidinil]-4-cromenona, y descrita en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,621,002);

Agonistas de los receptores de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH): Leuprolida o acetato de leuprolida (vendido bajo los nombres comerciales Viadure® por Bayer AG,

Eligard® por Sanofi-Aventis y Lupron® por Abbott Lab);

Agentes anti-neoplásicos de taxano: Cabazitaxel (1-hidroxi-7ß,10ß-dimetoxi-9-oxo-5ß,20-epoxitax-11-ene-2α,4,13α-triil-4-acetato-2-benzoato-13-[(2R,3S)-3-{[(terbutoxi)-carbonil]-amino}-2-hidroxi-3-fenil-propanoato), larotaxel (benzoato de (2α,3ξ,4α,5ß,7α,10ß,13α)-4,10-bis-(acetiloxi)-13-({(2R,3S)-3-[(terbutoxi-carbonil)-amino]-2-hidroxi-3-fenil-propanoil}-oxi)-1-hidroxi-9-oxo-5,20-epoxi-7,19-ciclotax-11-en-2-ilo);

Agonistas del receptor 5HT1a: Xaliprodeno (también conocido como SR57746, 1-[2-(2-naftil)-etil]-4-[3-(trifluoro-metil)-fenil]-1,2,3,6-tetrahidro-piridina, y descrita en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,266,573);

Vacunas de HPC: Cervarix® vendido por GlaxoSmithKline, Gardasil® vendido por Merck;

Agentes quelantes de hierro: Deferasinox (vendido bajo el nombre comercial Exjade® por Novartis);

Anti-metabolitos: Claribina (2-cloro-desoxi-adenosina, vendida bajo el nombre comercial leustatin®), 5-fluoro-uracilo (vendido bajo el nombre comercial Adrucil®), 6-tioguanina (vendida bajo el nombre comercial Purinathol®), pemetrexed (vendido bajo el nombre comercial Alimta®), citarabina (también conocida como arabinosil-citosina (Ara-C), vendida bajo el nombre comercial Cytosar-U®), citarabina liposomal (también conocida como Ara-C Liposomal, vendida bajo el nombre comercial DepoCyt^{MR}), decitabina (vendida bajo el nombre comercial

Dacogen®), hidroxiurea (vendida bajo los nombres comerciales Hidrea®, Droxia^{MR} y Mylocel^{MR}), fludarabina (vendida bajo el nombre comercial Fludara®), floxuridina (vendida bajo el nombre comercial FUDR®), cladribina (también conocida como 2-cloro-desoxi-adenosina (2-CdA) vendida bajo el nombre comercial Leustatin^{MR}), metotrexato (también conocido como ametopterina, metotrexato-sodio (MTX), vendido bajo los nombres comerciales Rheumatrex® y Trexall^{MR}), pentostatina (vendida bajo el nombre comercial Nipent®);

Bisfosfonatos: Pamidronato (vendido bajo el nombre comercial Aredia®), ácido zoledrónico (vendido bajo el nombre comercial Zometa®);

Agentes desmetilantes: 5-azacitidina (vendida bajo el nombre comercial Vidaza®), decitabina (vendida bajo el nombre comercial Dacogen®);

Alcaloides de plantas: Paclitaxel enlazado a proteína (vendido bajo el nombre comercial Abraxane®), vinblastina (también conocida como sulfato de vinblastina, vincaleucoblastina y VLB, vendida bajo los nombres comerciales Alkaban-AQ® y Velban®), vincristina (también conocida como sulfato de vincristina, LCR, y VCR, vendida bajo los nombres comerciales Oncovin® y Vincasar Pfs®), vinorelbina (vendida bajo el nombre comercial Navelbine®), paclitaxel (vendido bajo los nombres comerciales Taxol y Onxal^{MR});

Retinoides: Alitretinoína (vendida bajo el nombre comercial

Panretin®), tretinoína (ácido retinoico todo *trans*, también conocido como ATRA, vendido bajo el nombre comercial Vesanoid®), Isotretinoína (ácido 13-cis-retinoico, vendido bajo los nombres comerciales Accutane®, Amnesteem®, Claravis®, Clarus®, Decutan®, Isotane®, Izotech®, Oratane®, Isotret®, y Sotret®), bexaroteno (vendido bajo el nombre comercial Targretin®);

Glucocorticosteroides: Hidrocortisona (también conocida como cortisona, hidrocortisona succinato de sodio, fosfato de sodio de hidrocortisona, y vendida bajo los nombres comerciales Ala-Cort®, Fosfato de Hidrocortisona, Solu-Cortef®, Hydrocort Acetate® y Lanacort®), dexametazona ((8S,9R,10S,11S,13S, 14S,16R,17R)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxi-acetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahidro-3H-ciclopenta-[a]-fenantren-3-ona), prednisolona (vendida bajo los nombres comerciales Delta-Cortel®, Orapred®, Pediapred® y Prelone®), prednisona (vendida bajo los nombres comerciales Deltasone®, Liquid Red®, Meticorten® y Orasone®), metil-prednisolona (también conocida como 6-metil-prednisolona, Acetato de Metil-prednisolona, Succinato de Sodio de Metil-prednisolona, vendido bajo los nombres comerciales Duralone®, Medralone®, Medrol®, M-Prednisol® y Solu-Medrol®);

Citoquinas: Interleucina-2 (también conocida como aldesleucina e IL-2, vendida bajo el nombre comercial Proleukin®), interleucina-11 (también conocida como Oprevelkin,

vendida bajo el nombre comercial Neumega®), interferón alfa (también conocido como IFN-alfa, vendido bajo los nombres comerciales Intron® A, y Roferon-A®);

Sub-reguladores de los receptores de estrógenos: Fulvestrant (vendido bajo el nombre comercial Faslodex®);

Anti-estrógenos: tamoxifeno (vendido bajo el nombre comercial Novaldex®);

Toremifeno (vendido bajo el nombre comercial Fareston®);

Moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERMs): Raloxifeno (vendido bajo el nombre comercial Evista®);

Agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH): Goserelina (vendida bajo el nombre comercial Zoladex®);

Progesteronas: megestrol (también conocido como acetato de megestrol, vendido bajo el nombre comercial Megace®);

Agentes citotóxicos varios: Trióxido arsénico (vendido bajo el nombre comercial Trisenox®), asparaginasa (también conocida como L-asparaginasa, L-asparaginasa Erwinia, vendida bajo los nombres comerciales Elspar® y Kidrolase®);

Un compuesto de la fórmula (I) también se puede utilizar en combinación con las siguientes terapias aunadas:

Fármacos contra la náusea: Antagonistas del receptor NK-1: Casopitant (vendido bajo los nombres comerciales Rezonic® y Zunrisa® por GlaxoSmithKline); y

Agentes citoprotectores: Amifostina (vendida bajo el nombre comercial Ethyol®), leucovorina (también conocida como

leucovorina-calcio, factor citrovorum y ácido folínico).

Inhibidores del punto de verificación inmunitario: En una modalidad, las terapias de combinación que se dan a conocer en la presente incluyen un inhibidor de una molécula inhibidora de una molécula del punto de verificación inmunitario. El término "puntos de verificación inmunitarios" se refiere a un grupo de moléculas sobre la superficie celular de las células-T CD4 y CD8. Estas moléculas pueden servir efectivamente como "frenos" para sub-modular o inhibir una respuesta inmunitaria anti-tumoral. Las moléculas del punto de verificación inmunitario incluyen, pero no se limitan a, Muerte Programada 1 (PD-1), Antígeno de Linfocitos-T Citotóxico 4 (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40, y LAG3, los cuales inhiben directamente las células inmunes. Los agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores del punto de verificación inmunitario útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los inhibidores de PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. La inhibición de un molécula inhibidora se puede llevar a cabo mediante la inhibición al nivel del ADN, del ARN o de la proteína. En algunas modalidades, se puede utilizar un ácido nucleico inhibidor (por ejemplo, un dsARN, siARN o shARN), para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras modalidades, el inhibidor de una señal inhibidora es un polipéptido, por ejemplo, un ligando soluble, o un anticuerpo o el fragmento de enlace al antígeno del mismo, que se

enlaza a la molécula inhibidora.

En ciertas modalidades, las moléculas anti-PD-1 descritas en la presente se administran en combinación con uno o más inhibidores diferentes de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2 conocidos en la materia. El antagonista puede ser un anticuerpo, un fragmento de enlace al antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido.

En ciertas modalidades, las terapias de combinación que se dan a conocer en la presente incluyen un modulador de una molécula co-estimulante o una molécula inhibidora, por ejemplo, un ligando o receptor co-inhibidor.

En una modalidad, el modulador co-estimulante, por ejemplo, el agonista, de una molécula co-estimulante, se selecciona a partir de un agonista (por ejemplo, un anticuerpo agonista o el fragmento de enlace al antígeno del mismo, o una fusión soluble) de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, luz, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o de un ligando CD83.

En otra modalidad, las terapias de combinación que se dan a conocer en la presente incluyen una molécula co-estimulante, por ejemplo, un agonista asociado con una señal positiva que incluye un dominio co-estimulante de CD28, CD27, ICOS y GITR.

En una modalidad, la molécula del anticuerpo anti-PD-1 se administra después del tratamiento, por ejemplo, después del

tratamiento de un melanoma, con un anticuerpo anti-CTLA4 (por ejemplo, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib). Las dosis de ejemplo que se pueden utilizar incluyen una dosis de la molécula de anticuerpo anti-PD-1 de aproximadamente 1 a 10 miligramos/kilogramo, por ejemplo, de 3 miligramos/kilogramo, y una dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab, de aproximadamente 3 miligramos/ kilogramo.

En otra modalidad, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 o un fragmento de enlace al antígeno del mismo. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o con el fragmento de enlace al antígeno del mismo. En todavía otras modalidades, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-TIM, o los fragmentos de enlace al antígeno de los mismos. La combinación de los anticuerpos mencionados en la presente, se pueden administrar por separado, por ejemplo, como anticuerpos separados, o se pueden enlazar, por ejemplo, como una molécula de anticuerpo biespecífica o triespecífica. En una modalidad, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 y un anticuerpo anti-TIM-3 o anti-LAG-3, o un fragmento de enlace al antígeno de los mismos. En ciertas modalidades, la combinación de

anticuerpos mencionados en la presente se utiliza para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en la presente (por ejemplo, un tumor sólido). La eficacia de las combinaciones anteriormente mencionadas se puede probar en modelos animales conocidos en la materia. Por ejemplo, los modelos animales para probar el efecto sinérgico de los anti-PD-1 y anti-LAG-3 se describen, por ejemplo, en Woo y colaboradores (2012) *Cancer Res.* 72(4): 917-27).

En algunas modalidades, la terapia de combinación que se da a conocer en la presente (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3 o anti-TIM-3). En una modalidad, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 o un fragmento de enlace al antígeno del mismo. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o el fragmento de enlace al antígeno del mismo. En todavía otras modalidades, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-TIM, o los fragmentos de enlace al antígeno de los mismos. La combinación de anticuerpos mencionados en la presente, se pueden administrar por separado, por ejemplo, como anticuerpos separados, o se pueden enlazar, por ejemplo, como una molécula de anticuerpo biespecífica o triespecífica. En una

modalidad, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 y un anticuerpo anti-TIM-3 o anti-LAG-3, o un fragmento de enlace al antígeno de los mismos. En ciertas modalidades, la combinación de anticuerpos mencionados en la presente se utiliza para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en la presente (por ejemplo, un tumor sólido). La eficacia de las combinaciones anteriormente mencionadas se puede probar en modelos animales conocidos en la materia. Por ejemplo, los modelos animales para probar el efecto sinérgico de los anti-PD-1 y anti-LAG-3 se describen, por ejemplo, en Woo y colaboradores (2012) *Cancer Res.* 72(4): 917-27).

En ciertas modalidades, la molécula de anticuerpo está en la forma de una molécula de anticuerpo biespecífica o multiespecífica. En una modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica tiene una primera especificidad de enlace con PD-1 o PD-L1 y una segunda especificidad de enlace, por ejemplo, una segunda especificidad de enlace con TIM-3, LAG-3, o PD-L2. En una modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica se enlaza a PD-1 o PD-L1 y TIM-3. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica se enlaza a PD-1 o PD-L1 y LAG-3. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica se enlaza a PD-1 o PD-L1. En todavía otra modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica se enlaza a PD-1 y PD-L2. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo biespecífica se enlaza a

TIM-3 y LAG-3. Cualquier combinación de las moléculas anteriormente mencionadas se puede convertir en una molécula de anticuerpo multiespecífica, por ejemplo, un anticuerpo triespecífico que incluye una primera especificidad de enlace con PD-1 o PD-1, y una segunda y una tercera especificidades de enlace con dos o más de: TIM-3, LAG-3, o PD-L2.

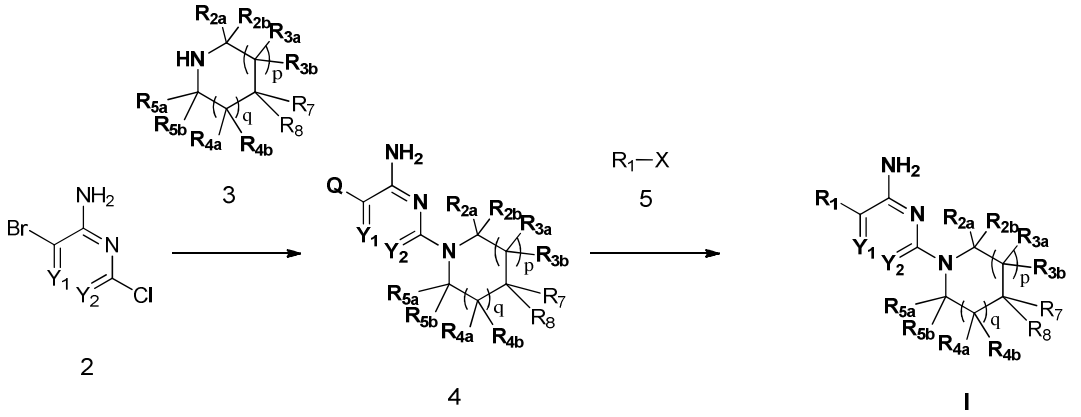
Ninguna de las citas de referencias hechas dentro de la presente descripción debe entenderse como una admisión de que las referencias citadas sean técnica anterior que pudiera afectar negativamente a la patentabilidad de la presente invención.

Procesos para la elaboración de los compuestos de la invención

La presente invención también incluye procesos para la preparación de los compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger a los grupos funcionales reactivos, por ejemplo, los grupos hidroxilo, amino, imino, tio, o carboxilo, en donde se deseen éstos en el producto final, para evitar su participación indeseada en las reacciones. Se pueden utilizar los grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene y P. G. M. Wuts en “Protective Groups in Organic Chemistry”, John Wiley and Sons, 1991.

Los compuestos de la fórmula I se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción I:

Esquema de reacción I



en donde p, q, Y_1, Y_2, R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b}, R_7 y R_8 son como se definen para la fórmula I en la Breve Descripción de la Invención, Q es un halógeno (como bromo) o un tiol, boronato o estanato que reacciona con un halógeno sobre el compuesto 5, y X es un grupo reactivo que reacciona con Q (tal como un boronato, estanano, alcohol, tiol, halógeno, y similares). El compuesto 4 se puede preparar mediante la reacción del compuesto 2 con el compuesto 3 a través de una reacción bajo condiciones ácidas o básicas adecuadas en la presencia o en ausencia de un metal de transición bajo temperatura ambiente, o bajo condiciones térmicas o de microondas. De una manera alternativa, el halógeno del compuesto 2 puede ser reemplazado por otros halógenos o grupos activadores adecuados, tales como triflatos, mesilatos, tosilatos, nonaflatos, boronatos, organo-estananos, organo-sililos, organo-zincs, litio, magnesio, y similares.

Un compuesto de la fórmula I se puede preparar mediante la reacción del compuesto 4 con un compañero de acoplamiento adecuado (por ejemplo, el compuesto 5) dependiendo de X. Por ejemplo, el compuesto 5 se muestra en el esquema de reacción I como un grupo fenilo sustituido enlazado por medio de X. De una manera alternativa, el compuesto 5 podría ser alcohol arílico, tioarilo, boronato de arilo, estanato de arilo, alcohol heteroarílico, aril-tiol, heteroaril-tiol, boronato de arilo, aril-estanano, olefina, u otros metales de arilo o metales de heteroarilo, y similares. Los componentes de acoplamiento también pueden estar sustituidos. Esta reacción se puede conducir bajo condiciones ácidas o básicas adecuadas, en la presencia o en ausencia de un metal de transición, tal como paladio, bajo temperatura ambiente, o bajo condiciones térmicas o de microondas. Se pueden utilizar otros halógenos o grupos activadores adecuados (por ejemplo, triflatos, mesilatos, tosilatos, y nonaflatos) en lugar de Br para estas transformaciones.

De una manera alternativa, los componentes de acoplamiento se podrían invertir, y el compuesto 2 se puede derivar hasta un estanano, boronato, organo-zinc, organo-litio, organo-magnesio, organo-silicio, organo-cuprato, y se puede acoplar con un haluro de arilo, haluro de heteroarilo, olefina o un grupo funcional reactivo adecuado (por ejemplo, triflatos, mesilatos, tosilatos y nonaflatos), y similares.

Estas reacciones se pueden conducir en el orden descrito o

en un orden inverso, bajo una variedad de solventes, temperaturas, presiones, y bajo atmósferas adecuadas. Las reacciones se pueden conducir bajo condiciones de ácido, base, y/o metal de transición.

Los ejemplos detallados de la síntesis de los compuestos de la fórmula I se pueden encontrar en los Ejemplos que se encuentran más adelante.

Procesos adicionales para la elaboración de los compuestos de la invención

Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, mediante la reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. De una manera alternativa, se puede preparar una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención mediante la reacción de la forma del ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden modificar adjuntando las funcionalidades apropiadas para mejorar las propiedades biológicas selectivas. Las modificaciones de esta clase se conocen en la técnica, e incluyen aquéllas que aumentan la penetración en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central, testículos), aumentan la biodisponibilidad, aumentan la solubilidad para permitir la administración parenteral (por ejemplo, inyección, infusión),

alteran el metabolismo y/o alteran la velocidad de secreción. Los ejemplos de este tipo de modificaciones incluyen, pero no se limitan a, esterificación, por ejemplo, con polietilenglicoles, derivación con pivaloiloxilo o sustituyentes de ácidos grasos, conversión hasta carbamatos, hidroxilación de anillos aromáticos, y sustitución de heteroátomos en anillos aromáticos. Siempre que se mencionen los compuestos de la fórmula (I) y/o los N-óxidos, tautómeros y/o las sales de los mismos (de preferencia farmacéuticamente aceptables), estos comprenden las fórmulas modificadas, mientras que, de preferencia, se refieren a las moléculas de la fórmula (I), sus N-óxidos, tautómeros y/o sales.

De una manera alternativa, las formas de sal de los compuestos de la invención se pueden preparar utilizando sales de los materiales de partida o intermediarios. En vista de la estrecha relación entre los compuestos novedosos de la fórmula (I) en forma libre y aquéllos en la forma de sus sales, incluyendo las sales que se pueden utilizar como intermediarios, por ejemplo, en la purificación o identificación de los compuestos novedosos, cualquier referencia a los compuestos o un compuesto de la fórmula (I) anteriormente en la presente y posteriormente en la presente, se debe entender para referirse al compuesto en forma libre y/o también a una o más sales de los mismos, como sea apropiado y conveniente, así como a uno o más solvatos, por ejemplo, hidratos.

Las sales se forman, por ejemplo, como las sales de adición

de ácido, de preferencia con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de los compuestos de la fórmula (I), con un átomo de nitrógeno básico, en especial las sales farmacéuticamente aceptables. Los ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos de halógeno, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos carboxílicos, fosfónicos, sulfónicos o sulfámicos, por ejemplo, el ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido malónico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroxi-maleico, ácido metil-maleico, ácido ciclo-hexan-carboxílico, ácido adamantan-carboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicíclico, ácido ftálico, ácido fenil-acético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metan- o etan-sulfónico, ácido 2-hidroxi-etan-sulfónico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido bencen-sulfónico, ácido 4-toluen-sulfónico, ácido 2-naftalen-sulfónico, ácido 1,5-naftalen-disulfónico, ácido 2- o 3-metil-bencen-sulfónico, ácido metil-sulfúrico, ácido etil-sulfúrico, ácido dodecil-sulfúrico, ácido N-ciclohexil-sulfámico, ácido N-metil-, N-etil- o N-propil-sulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tales como ácido ascórbico.

Para los propósitos de aislamiento o purificación, también es

posible utilizar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo, picratos o percloratos. Para uso terapéutico, solamente se emplean las sales farmacéuticamente aceptables o los compuestos libres (donde sea aplicable, en la forma de preparaciones farmacéuticas) y, por consiguiente, éstas son las preferidas.

Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la forma de sal de adición de base o de sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir hasta la base libre correspondiente mediante el tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, una solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares). Un compuesto de la invención, en una forma de sal de adición de base se puede convertir hasta el ácido libre correspondiente mediante el tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

Los compuestos de la invención, en una forma no oxidada, se pueden preparar a partir de los N-óxidos de los compuestos de la invención, mediante el tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenil-fosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares), en un solvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso, o similares) de 0°C a 80°C.

Los derivados de pro-fármaco de los compuestos de la

invención se pueden preparar mediante los métodos conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en la materia (por ejemplo, para mayores detalles, véase Saulnier y colaboradores (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Volumen 4, página 1985). Por ejemplo, los pro-fármacos apropiados se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto no derivado de la invención con un agente carbamilante adecuado (por ejemplo, 1,1-aciloxi-alquil-carbano-cloridato, carbonato de para-nitro-fenilo, o similares).

Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden hacer por medios conocidos por aquéllos de una experiencia ordinaria en este campo. Se puede encontrar una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de los grupos protectores y su remoción en T. W. Greene, “Protecting Groups in Organic Chemistry”, 3ª Edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar, o formar, durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar mediante recristalización a partir de una mezcla de solventes acuosos/orgánicos, utilizando solventes orgánicos, tales como dioxina, tetrahidrofurano (THF) o metanol.

Los compuestos de la invención se pueden preparar como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una

mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diaestereoisoméricos, se separan los diaestereómeros, y se recuperan los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de los enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diaestereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, las sales diaestereoméricas cristalinas). Los diaestereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.), y se pueden separar fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diaestereómeros se pueden separar mediante cromatografía, o de preferencia, mediante las técnicas de separación/resolución basadas en las diferencias en la solubilidad. Entonces se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no dé como resultado la racemización. Se puede encontrar una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, “Enantiomers, Racemates and Resolutions”, John Wiley And Sons, Inc., 1981.

En resumen, los compuestos de la fórmula I se pueden elaborar mediante un proceso que involucra:

(a) aquél del esquema de reacción I; y

(b) opcionalmente convertir un compuesto de la invención, en una sal farmacéuticamente aceptable;

(c) opcionalmente convertir una forma de sal de un compuesto de la invención hasta una forma no de sal;

(d) opcionalmente convertir una forma no oxidada de un compuesto de la invención hasta un N-óxido farmacéuticamente aceptable;

(e) opcionalmente convertir una forma de N-óxido de un compuesto de la invención hasta su forma no oxidada;

(f) opcionalmente resolver un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;

(g) opcionalmente convertir un compuesto no derivado de la invención hasta un derivado de pro-fármaco farmacéuticamente aceptable; y

(h) opcionalmente convertir un derivado de pro-fármaco de un compuesto de la invención hasta su forma no derivada.

Hasta donde no se describa particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o se pueden preparar de una manera análoga a los métodos conocidos en la técnica, o como se da a conocer en los Ejemplos posteriormente en la presente.

Un experto en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son solamente representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que se pueden emplear similarmente otros métodos bien conocidos.

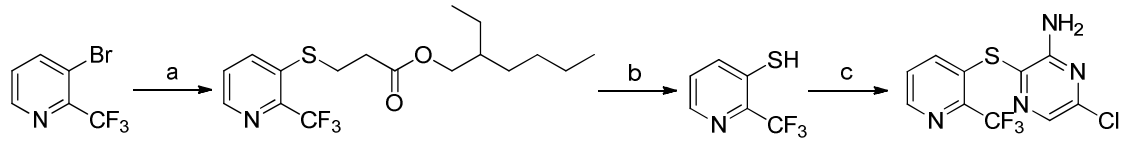
EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos e intermediarios sirven para ilustrar la invención sin limitar su alcance. Algunas las abreviaturas utilizadas en los Ejemplos son como sigue: ácido acético (AcOH); trietil-amina (TEA); tetrahidrofurano (THF); acuoso (aq); atmósfera (atm.); 2,2'-bis-difenil-fosfanil-[1,1']-binaftalenilo (BINAP); 4-dimetil-amino-piridina (DMAP); terbutoxi-carbonilo (Boc); 1,1-carbonil-di-imidazol (CDI); dicarbonato de diterbutilo (BOC_2O); hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetil-amino)-fosfonio (BOP); dicloro-metano (DCM); dietil-éter (Et_2O); ácido p-toluen-sulfónico (PTSA); acetato de etilo (EtOAc); etanol (EtOH); bis-(trimetil-silil)-amida de litio (LHMDS); azodicarboxilato de di-isopropilo (DIAD); *N,N*-di-isopropil-etil-amina (DIEA o DIPEA); *N,N*-dimetil-formamida (DMF); sulfóxido de dimetilo (DMSO); difenil-fosforil-azida (DPPA); hora(s) (h); hexafluoro-fosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio (HATU); cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC); hidruro de litio y aluminio (LAH); cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas (LCMS); di-isopropil-amida de litio (LDA); metanol (MeOH); mililitro(s) (mL); minuto(s) (min); microondas (MW); *n*-butil-litio (n-BuLi); 1,1-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno-dicloro-paladio(II) ($PdCl_2$(dppf)); tris-(dibenciliden-acetona)-dipaladio(0) ($Pd_2(dba)_3$); diclorobis-(trifenil-fosfina)-paladio(II) ($PdCl_2(PPh_3)_2$); temperatura ambiente (RT); ácido trifluoro-acético (TFA); tetrahidrofurano (THF); cromatografía de capa delgada (TLC); tiempo de retención (t_R); y 4,5-bis-(difenil-

fosfino)-9,9-dimetil-xanteno (XantPhos).

Intermediario 1

6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina



Paso a: A una solución de 3-bromo-2-(trifluoro-metil)-piridina (1.0 gramo, 4.42 milimoles), XantPhos (256 miligramos, 0.442 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (203 miligramos, 0.221 milimoles) en dioxano (12 mililitros), se le agregó (a temperatura ambiente, y bajo N_2) 3-mercapto-propanoato de 2-etil-hexilo (1.1 mililitros, 4.87 milimoles), seguido por la adición de di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.55 mililitros, 8.85 milimoles). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1 hora a 110°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (25 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (1.41 gramos, 3.88 milimoles). MS *m/z* 364.0 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de 3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (1.0 gramo, 2.75 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (8 mililitros), se le agregó, a -78°C y bajo N_2,

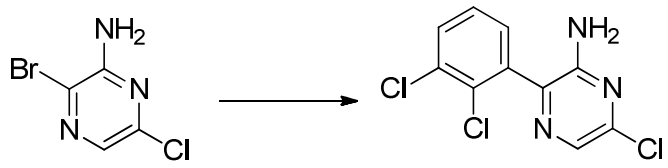
terbutóxido de potasio (1 M en tetrahidrofurano (THF), 8.25 mililitros, 8.25 milimoles). Después de agitar vigorosamente a -78°C durante 20 minutos, la reacción se apagó con K_2CO_3 acuoso (2 M, 500 microlitros), y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se vertió en un embudo de separación que contenía K_2CO_3 acuoso (2 M, 30 mililitros), y se extrajo con Et_2O (20 mililitros, 2 veces). La fase acuosa se acidificó con HCl 6 M hasta un pH de 4 y la suspensión nebulosa resultante se extrajo con $CHCl_3$:IPA (9:1; 20 mililitros, 3 veces), para dar el 2-(trifluoro-metil)-piridin-3-tiol (380 miligramos, 2.12 milimoles). MS *m/z* 180.0 $(M+H)^+$.

Paso c: A una solución de 2-(trifluoro-metil)-piridin-3-tiol (285 miligramos, 1.591 milimoles), 3-bromo-6-cloro-pirazin-2-amina (414 miligramos, 1.988 milimoles), XantPhos (101 miligramos, 0.175 milimoles), y $Pd_2(dba)_3$ (72.8 miligramos, 0.08 milimoles) en dioxano (2 mililitros), se le agregó (a temperatura ambiente, y bajo N_2) di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (556 microlitros, 3.18 milimoles). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (25 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (1.41 gramos, 3.88 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.64 (dd, J = 4.55, 1.26 Hz, 1 H), 7.90

(s, 1 H), 7.82 (dd, J = 8.08, 0.76 Hz, 1 H), 7.46 (dd, J = 8.08, 4.80 Hz, 1 H); ^{19}F RMN (376 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm -64.34 (s, 1 F). MS *m/z* 307.1 $(M+H)^+$.

Intermediario 2

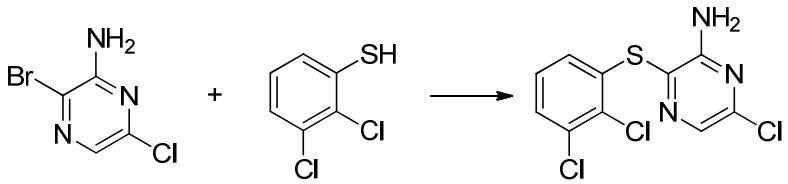
6-(4-amino-4-metil-piperidin-1-il)-3-(2,3-dicloro-fenil)-pirazin-2-amina



Una suspensión de 3-bromo-6-cloro-pirazin-2-amina (1.2 gramos, 5.76 milimoles), ácido (2,3-dichlofenil)-borónico (1.1 gramos, 5.76 milimoles), fosfato de potasio (3.67 gramos, 17.27 milimoles), y aducto de $PdCl_2$(dppf)·DCM (235 miligramos, 0.288 milimoles) en MeCN:H_2O (9:1, 15 mililitros, desgasificado) se agitó en un reactor de microondas durante 4 horas a 120°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (25 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la 6-(4-amino-4-metil-piperidin-1-il)-3-(2,3-dicloro-fenil)-pirazin-2-amina (633 miligramos, 2.306 milimoles). MS *m/z* 276.4 $(M+H)^+$.

Intermediario 3

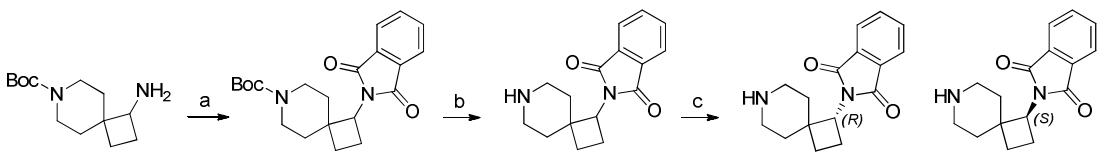
6-cloro-3-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-amina



Una mezcla de 3-bromo-6-cloro-pirazin-2-amina (5.0 gramos, 23.99 milimoles), 2,3-dicloro-bencenotiol (6.44 gramos, 36.0 milimoles), yoduro de cobre(I) (914 miligramos, 4.80 milimoles), fosfato de potasio (10.18 gramos, 48.0 milimoles), y 1,10-fenantrolina (1.73 miligramos, 9.59 milimoles) en dioxano (50 mililitros, desgasificado) se agitó durante 16 horas a 85°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (50 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 25 por ciento de dicloro-metano (DCM)/tolueno), para dar la 6-cloro-3-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-amina (3.7 gramos, 12.07 milimoles). MS *m/z* 306.0 $(M+H)^+$.

Intermediario 4

(*R*), y (*S*)-2-(7-azaspiro-[3.5]-nonan-1-il)-isoindolina-1,3-diona



Paso a: Una suspensión de 1-amino-7-azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (250 miligramos, 1.04 milimoles), anhídrido

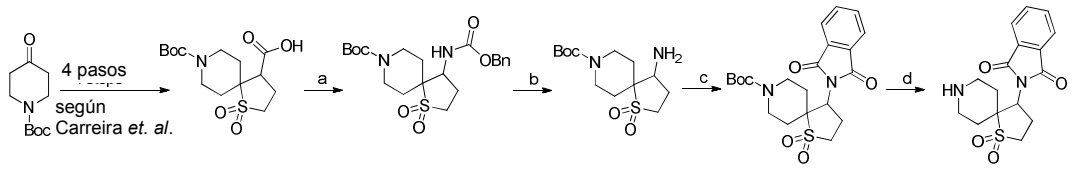
ftálico (193 miligramos, 1.3 milimoles), tamices moleculares activados (3 angstroms, 250 miligramos), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (545 microlitros, 3.12 milimoles) en tolueno (4 mililitros) se agitó durante 16 horas a 105°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (10 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 5 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-7-azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (233 miligramos, 0.629 milimoles). MS *m/z* 370.4 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de 1-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-7-azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (233 miligramos, 0.629 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 800 microlitros, 3.21 milimoles) en dioxano (5 mililitros) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron en el evaporador giratorio para dar la sal de HCl del compuesto del título (195 miligramos, 0.636 milimoles). MS *m/z* 270.3 $(M+H)^+$.

Paso c: La purificación de SFC quiral se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones; columna: Celulosa LUX-2 21x250 milímetros, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 50 por ciento de metanol y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 220 nanómetros UV para obtener dos picos R_t (P1)= 3.6 minutos (enantiómero *R*); R_t (P2)= 7.4 minutos (enantiómero *S*).

Intermediario 5

2-(1,1-dióxido-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona



Paso a: Una solución de 1,1-dióxido del ácido 8-(terbutoxi-carbonil)-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-carboxílico (preparado a partir de 4-oxo-piperidin-1-carboxilato de terbutilo en 4 pasos como se describe en Carreira y colaboradores, *Org Lett.*, **2011**, *13*, 6134-6136; 2.00 gramos, 6.00 milimoles), fosforazidato de difenilo (2.0 gramos, 7.26 milimoles), y Et_3N (1.0 mililitros, 7.26 milimoles) en tolueno (37 mililitros) se agitó durante 1.5 horas a 115°C. Se agregó alcohol bencílico (1.50 mililitros, 14.52 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ saturado acuoso (30 mililitros), y se extrajo con EtOAc (20 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 10 al 90 por ciento de EtOAc/heptano), para dar 1,1-dióxico de 4-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (1.57 g. 3.58 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 339.4 $(M+H)^+$.

Paso b: Una suspensión de 1,1-dióxico de 4-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de

terbutilo (570 miligramos. 1.30 milimoles), y Pd/C (al 10 por ciento sobre carbón, 138 miligramos) en tetrahidrofurano (THF) (8 mililitros) se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de H_2 durante 16 horas. La reacción se filtró a través de un tapón de Celite seguido por lavado con EtOAc (20 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar el 1,1-dióxido de 4-amino-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo el cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

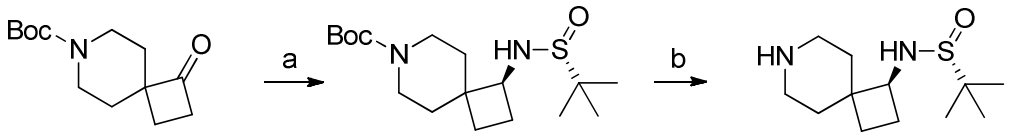
Paso c: Una suspensión de 1,1-dióxido de 4-amino-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (415 miligramos, 1.363 milimoles), anhídrido ftálico (252 miligramos, 1.704 milimoles), y tamices moleculares activados (3 angstroms, 500 miligramos) en tolueno (7 mililitros) se agitó vigorosamente durante 16 horas a 115°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (10 mililitros), y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de MeOH/DCM), para dar el 1,1-dióxido de 4-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (385 miligramos, 0.886 milimoles) como una espuma blanca. MS *m/z* 433.1 $(M-H)^-$.

Paso d: Una solución de 1,1-dióxido de 4-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (385 miligramos, 0.886 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 2.22 mililitros, 8.86 milimoles) en dioxano (4 mililitros) se agitó durante 16 horas a

temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con dioxano (20 mililitros), y se filtró, para dar la 2-(1,1-dióxido-1-tia-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona (sal de HCl, 328 miligramos, 0.884 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 335.4 $(M+H)^+$.

Intermediario 6

(*R*)-2-metil-*N*-((*S*)-7-azaspiro-[3.5]-nonan-1-il)-propan-2-sulfinamida



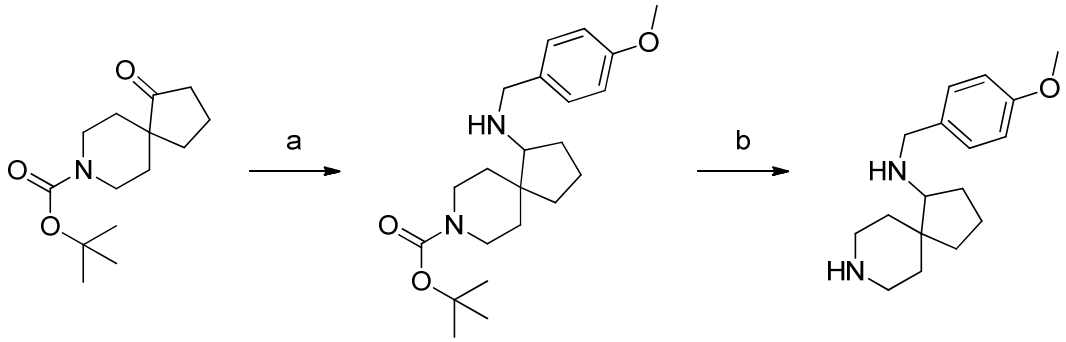
Paso a: Una solución de 1-oxo-7-azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (5.24 gramos, 21.9 milimoles), isopropóxido de titanio(IV) (16.2 mililitros, 54.7 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (3.45 gramos, 28.5 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (99 mililitros) se agitó durante 12 horas a 65°C. Después de enfriarse a -78°C, se agregó metanol (9.9 mililitros), seguido por borohidruro de litio (1.43 gramos, 65.7 milimoles). La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 3 horas y a temperatura ambiente durante 1 hora. Se agregó metanol, lentamente para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de salmuera. La mezcla resultante se agitó durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de Celite. La mezcla acuosa se extrajo con EtOAc (20 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano, para dar (*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-7-

azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (4.79 gramos, 13.90 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 345.3 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de (*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-7-azaspiro-[3.5]-nonan-7-carboxilato de terbutilo (0.4 gramos, 1.16 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (450 microlitros, 5.81 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (3.5 mililitros) se agitó durante 30 minutos a 40°C. Se agregó Na_2CO_3 saturado acuoso hasta un pH 11 y la mezcla acuosa se extrajo con dicloro-metano (DCM) (15 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (*R*)-2-metil-*N*-((*S*)-7-azaspiro-[3.5]-nonan-1-il)-propan-2-sulfinamida (237 miligramos, 0.97 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 245.5 $(M+H)^+$.

Intermediario 7

N-(4-metoxi-bencil)-8-azaspiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: A una solución de 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (1.8 gramos, 7.11 milimoles), y (4-metoxi-fenil)-metanamina (1.07 gramos, 7.82 milimoles) en dicloro-etano (7 mililitros), se le agregó ciano-borohidruro de sodio (2.23 gramos,

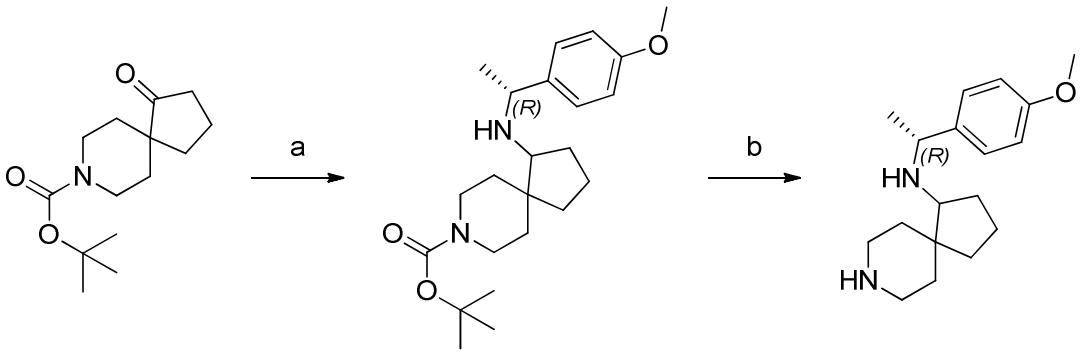
35.5 milimoles) en porciones y se agitó a temperatura ambiente durante 65 horas. La mezcla se diluyó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 mililitros), y se extrajo con EtOAc (20 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 2 por ciento de MeOH/DCM, Et_3N al 0.25 por ciento modificado, seguido por gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-((4-metoxi-bencil)-amino)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (1.1 gramos, 2.94 milimoles), como una cera incolora. MS *m/z* 375.3 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de 1-((4-metoxi-bencil)-amino)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (1.1 gramos, 2.94 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (2 mililitros) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros) se agitó durante 15 minutos a 0°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con $NaHCO_3$ acuoso (10 mililitros), y se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 4 veces), para dar la *N*-(4-metoxi-bencil)-8-azaspiro-[4.5]-decan-1-amina (0.8 gramos, 2.92 milimoles), como un aceite incoloro. MS *m/z* 275.2 $(M+H)^+$.

La *N*-(4-metoxi-bencil)-3-azaspiro-[5.5]-undecan-7-amina se obtuvo siguiendo el procedimiento anterior empezando a partir de 7-oxo-3-azaspiro-[5.5]-undecan-3-carboxilato de terbutilo.

Intermediario 8

N-((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-azaspiro-[4.5]-decan-1-amina

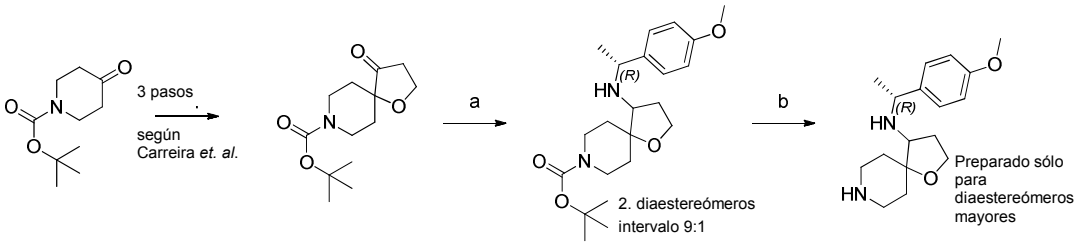


Paso a: A una solución de 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (1.15 gramos, 4.54 milimoles), y (*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etanamina (961 miligramos, 6.36 milimoles) en dicloro-etano (3 mililitros), se le agregó ciano-borohidruro de sodio en porciones y se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (5 mililitros), y se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron. El residuo resultante que contenía una mezcla 9:1 de diaestereómeros se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 20 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-(((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (diaestereómero mayor; 431 miligramos, 1.11 milimoles) puro. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.18-7.24 (m, 2 H), 6.81-6.86 (m, 2 H), 3.76 (d, J = 13.64 Hz, 1 H), 3.72 (s, 3 H), 3.64-3.70 (m, 2 H), 2.65-2.92 (m, 2 H), 2.05-2.14 (m, 1 H), 1.80-1.91 (m, 1 H), 1.65-1.75 (m, 1 H), 1.42-1.60 (m, 4 H), 1.40 (s, 9 H), 1.28-1.35 (m, 1 H), 1.20 (d, J = 6.57 Hz, 3 H), 1.09-1.17 (m, 2 H), 0.80 (d, J = 11.37 Hz, 1 H). MS *m/z* 389.6 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de 1-(((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (diaestereómero mayor; 431 miligramos, 1.11 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se le agregó ácido trifluoro-acético (TFA) (2 mililitros), y se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se concentró con otra adición de DCM, entonces se diluyó con $NaHCO_3$ acuoso saturado, y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (20 mililitros, 3 veces). Se lavaron los orgánicos con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron, para dar la *N-((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-azaspiro-[4.5]-decan-1-amina. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7.25 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 6.87 (d, J = 8.7 Hz, 2 H), 3.85-3.78 (m, 1 H), 3.78 (s, 3 H), 3.35 (m, 1 H), 3.28 (m, 1 H), 3.03 (m, 2 H), 2.63 (dd, J = 9.6, 7.3 Hz, 1 H), 2.06-1.85 (m, 2 H), 1.83-1.69 (m, 2 H), 1.62 (m, 1 H), 1.54-1.38 (m, 4 H), 1.33 (d, J = 6.6 Hz, 3 H), 1.31-1.23 (m, 1 H). MS *m/z* 289.5 $(M+H)^+$.

Intermediario 9

N-((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-1-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-amina



Paso a: A una solución de 4-oxo-1-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (preparado a partir de 4-oxo-piperidin-1-

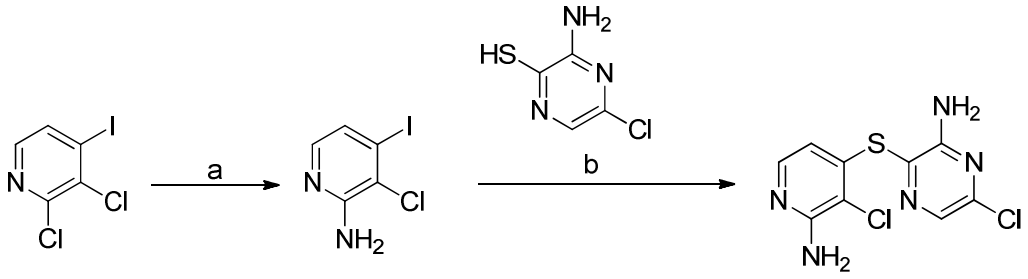
carboxilato de terbutilo en 3 pasos como se describe en Carreira y colaboradores, *Org Lett.*, **2013**, *15*, 4766-4769; 200 miligramos, 0.78 milimoles), y (*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etanamina (474 miligramos, 3.13 milimoles) en dicloro-etano (1 mililitro), se le agregó ciano-borohidruro de sodio en porciones (393 miligramos, 3.13 milimoles). La reacción resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se agregó borohidruro de litio (34 miligramos, 1.6 milimoles), y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con metanol (2 mililitros), y los volátiles se removieron bajo presión reducida (dos tiempos). Se agregó $NaHCO_3$ saturado acuoso (5 mililitros), y la mezcla se extrajo con dicloro-metano (DCM) (20 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. La mezcla 9:1 resultante de diaestereómeros se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 4-(((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-1-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (65 miligramos, 0.17 milimoles) diaestereoméricamente puro. Diaestereómero mayor: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 7.15 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 6.79 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 3.96-3.76 (m, 2 H), 3.77-3.66 (m, 5 H), 3.60 (t, J = 8.1 Hz, 1 H), 2.98 (m, 2 H), 2.76 (t, J = 7.8 Hz, 1 H), 1.95 (m, 1 H), 1.67-1.41 (m, 4 H), 1.40 (s, 9 H), 1.33 (d, J = 3.1 Hz, 1 H), 1.21 (d, J = 6.5 Hz, 3 H), 1.08-0.92 (m, 1 H). MS *m/z* 391.6 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de 4-(((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-

1-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (diaestereómero mayor, 65 miligramos, 0.17 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (2 mililitros) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros) se agitaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, se diluyeron con $NaHCO_3$ saturado acuoso (5 mililitros), y se extrajeron con dicloro-metano (DCM) (20 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la *N-((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-1-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-amina (40 miligramos, 0.13 milimoles), la cual se utilizó sin mayor purificación. MS *m/z* 291.5 $(M+H)^+$.

Intermediario 10

3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina



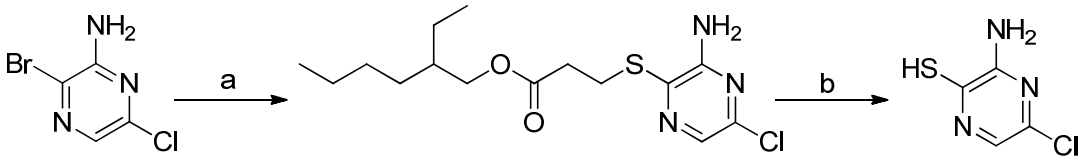
Paso a: La 2,3-dicloro-4-yodopiridina comercialmente disponible se convirtió en 3-cloro-4-yodopiridin-2-amina mediante un procedimiento **a**, como se describe en Marie y colaboradores, *Moléculas*, **2012**, *17*,10683-10707.

Paso b: A una solución de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (100 miligramos, 0.619 milimoles), 3-cloro-4-yodopiridin-2-amina (315

miligramos, 1.238 milimoles), XantPhos (35.8 miligramos, 0.062 milimoles), y $Pd_2(dba)_3$ (28.3 miligramos, 0.03 milimoles) en dioxano (3 mililitros), se le agregó (a temperatura ambiente, y bajo N_2) di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (324 microlitros, 1.856 milimoles). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 2.5 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (10 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 5 por ciento de MeOH/DCM), para dar la 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (1.41 gramos, 3.88 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.88 (s, 1 H), 7.68 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 6.06 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 1.35-1.43 (m, 2 H). MS *m/z* 288.2 $(M+H)^+$.

Intermediario 11

3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol



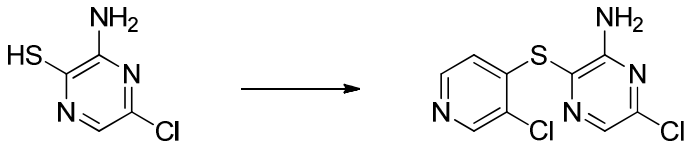
Paso a: Una solución de 3-bromo-6-cloro-pirazin-2-amina (4.95 gramos, 23.74 milimoles) en dioxano (119 mililitros) se roció con nitrógeno durante 10 minutos. Entonces, se agregaron 2-etil-hexilo 3-mercapto-propanoato (3.79 mililitros, 24.92 milimoles), Xantphos (1.37 gramos, 2.37 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (1.08 gramos, 1.19

milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (8.29 mililitros, 47.5 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 105°C durante 24 horas, y la mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para proporcionar el 3-((3-amino-5-cloro-pirazin-2-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (6.24 gramos, 18.04 milimoles), como un aceite color amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.82 (s, 1 H), 4.93 (br. s., 2 H), 4.14-3.96 (m, 2 H), 3.47 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 2.78 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 1.67-1.51 (m, 1 H), 1.44-1.20 (m, 8 H), 0.90 (t, J = 7.4 Hz, 6 H). MS *m/z* 346.0 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de 3-((3-amino-5-cloro-pirazin-2-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (2.3 gramos, 6.65 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (33 mililitros) a -78°C, se le agregó terbutóxido de potasio (1 M en tetrahidrofurano (THF), 19.95 mililitros, 19.95 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora. Se agregó metanol (20 mililitros), y la mezcla resultante se concentró. El producto crudo se disolvió en MeOH, se filtró, y se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 5 al 20 por ciento, acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), para proporcionar el 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (sal de TFA: 1.3 gramos, 4.72 milimoles), como un sólido amarillo. MS *m/z* 162.0 $(M+H)^+$.

Intermediario 12

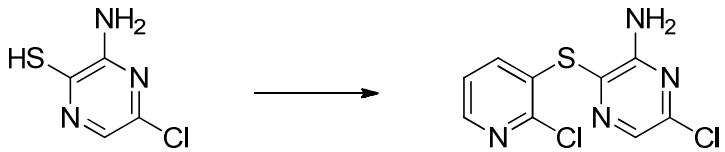
6-cloro-3-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina



Una solución de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.158 gramos, 0.978 milimoles) en dioxano (4.9 mililitros) se roció con nitrógeno durante 10 minutos. Entonces, se agregaron 3-cloro-4-yodopiridina (0.468 gramos, 1.955 milimoles), Xantphos (0.057 gramos, 0.098 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (0.045 gramos, 0.049 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.512 mililitros, 2.93 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 105°C durante 10 horas, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano; heptano que contenía 2 por ciento de Et_3N), para proporcionar la 6-cloro-3-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (75 miligramos, 0.274 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.46 (s, 1 H), 8.22 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 6.68 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 5.17 (br. s., 2 H). MS *m/z* 273.0 $(M+H)^+$.

Intermediario 13

6-cloro-3-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina

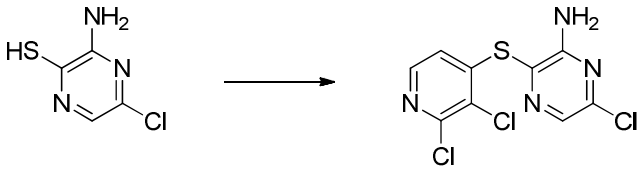


Una solución de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.2

gramos, 1.238 milimoles) en dioxano (6.2 mililitros) se roció con nitrógeno durante 10 minutos. Entonces, se agregaron 2-cloro-3-yodopiridina (0.593 gramos, 2.475 milimoles), Xantphos (0.072 gramos, 0.124 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (0.057 gramos, 0.062 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.65 mililitros, 3.71 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 105°C durante 10 horas, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano, que contenía 2 por ciento de Et_3N), para proporcionar la 6-cloro-3-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (95 miligramos, 0.348 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.28-8.38 (m, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.51-7.59 (m, 1 H), 7.22 (dd, J = 7.9, 4.6 Hz, 1 H), 5.25 (br. s., 2 H). MS *m/z* 273.0 $(M+H)^+$.

Intermediario 14

6-cloro-3-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina

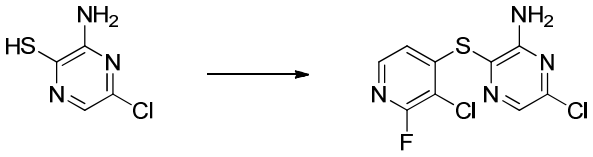


Una solución de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (sal de TFA: 0.50 gramos, 1.814 milimoles) en dioxano (90 mililitros) se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. Entonces, se agregaron 2,3-dicloro-4-yodopiridina (0.0.99 gramos, 3.63 milimoles), Xantphos (0.105 gramos, 0.181 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (0.083 gramos,

0.091 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.95 mililitros, 5.44 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 105°C durante 10 horas, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de EtOAc/DCM). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.13 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.30 (br. s, 2 H), 6.83 (d, J = 5.3 Hz, 1 H). MS *m/z* 306.9 $(M+H)^+$.

Intermediario 15

6-cloro-3-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina

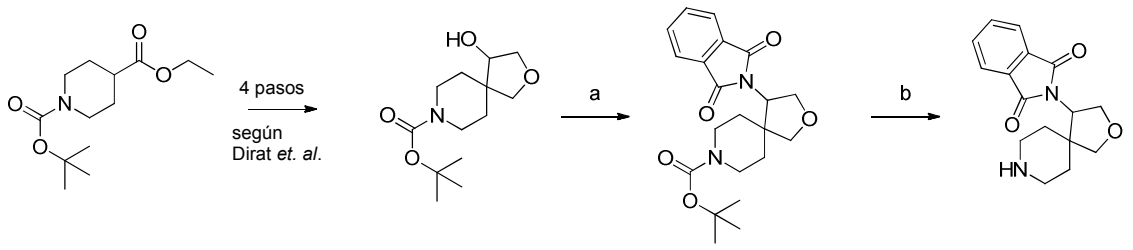


Una solución de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (sal de TFA: 50 miligramos, 0.181 milimoles) en dioxano (1.8 mililitros) se roció con nitrógeno durante 10 minutos. Entonces, se agregaron 3-cloro-2-fluro-4-yodopiridina (0.140 gramos, 0.544 milimoles), Xantphos (11 miligramos, 0.018 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (8 miligramos, 0.009 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (95 microlitros, 0.544 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 100°C durante 10 horas, se filtró a través de Celite, y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano; heptano que contenía 2 por ciento Et_3N), para proporcionar la 6-cloro-3-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (41 miligramos, 0.137 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.06 (s, 1 H),

7.91 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 6.63 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 5.30 (br. s, 2 H). MS *m/z* 291.0 $(M+H)^+$.

Intermediario 17

2-(2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona



Siguiendo los procedimientos de Dirat y colaboradores, PCT Int. Appl., 20044078750, 16 de septiembre 2004, se preparó 4-hidroxi-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo. ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 4.13 (dd, J = 10.1, 4.6 Hz, 1 H), 4.03 (dd, J = 4.6, 2.0 Hz, 1 H), 3.78–3.71 (m, 2 H), 3.69 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.67–3.58 (m, 2 H), 3.29 (m, 1 H), 3.16 (m, 1 H), 1.78 (m, 2 H), 1.58 (m, 1 H), 1.50 (m, 2 H), 1.47 (s, 9 H). MS *m/z* 258.1 $(M-H)^+$ a partir de 1-terbutilo 4-etil-piperidin-1,4-dicarboxilato en cuatro pasos, entonces se convirtió en 2-(2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona en dos pasos como sigue.

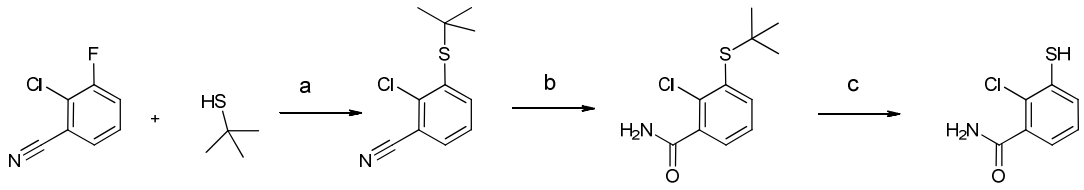
Paso a: A una solución de 4-hidroxi-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (306 miligramos, 1.19 milimoles), ftalimida (262 miligramos, 1.78 milimoles), y trifenil-fosfina (468 miligramos, 1.78 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros), se le agregó aza-dicarboxilato de di-isopropilo (0.374 mililitros, 1.78 milimoles), y se agitó 16 horas. Se concentra y se purificó mediante

cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano) para obtener 4-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico (190 miligramos, 0.49 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7.88 (dd, J = 5.4, 3.0 Hz, 2 H), 7.77 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H), 4.65 (dd, J = 8.7, 5.6 Hz, 1 H), 4.40 (dd, J = 9.5, 5.6 Hz, 1 H), 4.26 (t, J = 9.0 Hz, 1 H), 4.08 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 3.98 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 3.84 (m, 1 H), 3.58 (m, 1 H), 3.20 (m, 1 H), 2.94 (m, 1 H), 1.73 (m, 2 H), 1.56 (s, 9 H), 1.42–1.36 (m, 2 H).

Paso b: A una solución de 4-(1,3-dioxo-isoindolin-2-il)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico (190 miligramos, 0.49 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (3 mililitros), se le agregó ácido trifluoro-acético (TFA) (1 mililitro). Se concentró con otra adición de dicloro-metano (DCM), luego acetonitrilo para obtener la 2-(2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona como una sal de ácido trifluoro-acético (TFA) (cuantitativo). MS *m/z* 287.0 $(M+H)^+$. Utilizado sin mayor caracterización.

Intermediario 18

2-cloro-3-mercapto-benzamida



Paso a: Una mezcla de 2-cloro-3-fluoro-benzonitrilo (3.15 gramos, 20.25 milimoles), 2-metil-propan-2-tiol (2.283 mililitros,

20.25 milimoles), y Cs_2CO_3 (6.598 gramos, 20.25 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (DMF) (100 mililitros) se agitó durante 48 horas a 22°C. La mezcla de reacción se diluyó con agua (200 mililitros), y EtOAc (300 mililitros). La capa de EtOAc se lavó con agua (300 mililitros, 3 veces), salmuera (100 mililitros, 3 veces), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente: 45 a 70 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar el 3-(terbutil-tio)-2-cloro-benzonitrilo (1.33 gramos, 5.89 milimoles). MS *m/z* 226.1 $(M+H)^+$.

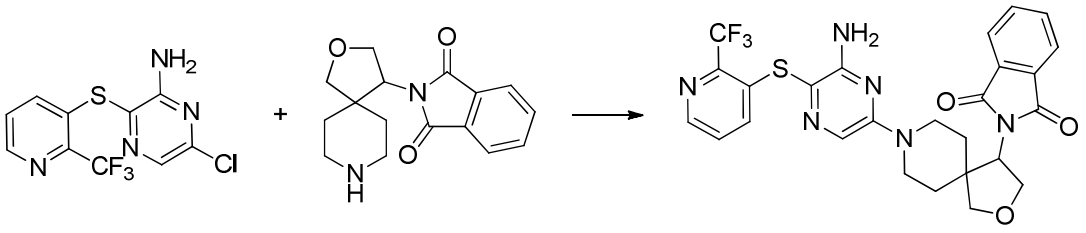
Paso b: Una mezcla de 3-(terbutil-tio)-2-cloro-benzonitrilo (217 miligramos, 0.961 milimoles), y NaOH (1 N, 2.88 mililitros, 2.88 milimoles) en metanol (MeOH) (11 mililitros) se irradió en un reactor de microondas durante 35 minutos a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se concentró y se disolvió en metanol (MeOH). El sólido se filtró, y el filtrado se concentró hasta casi la sequedad y se purificó mediante HPLC (elución en gradiente: 25 a 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la 3-(terbutil-tio)-2-cloro-benzamida (93.6 miligramos, 0.384 milimoles). MS *m/z* 244 $(M+H)^+$.

Paso c: Una mezcla de 3-(terbutil-tio)-2-cloro-benzamida (190 miligramos, 0.779 milimoles), y HCl concentrado (2.36 mililitros, 78 milimoles), se agitó durante 45 minutos a 85°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se concentró hasta sequedad, para proporcionar la 2-cloro-3-mercapto-benzamida cruda (sal de

HCl: 156 miligramos, 0.651 milimoles). MS *m/z* 188 $(M+H)^+$.

Intermediario 19

2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona

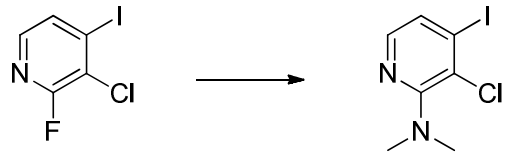


La 2-(2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona acoplada a la sal de ácido trifluoro-acético (TFA) con 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (151 miligramos, 0.492 milimoles), utilizada en los procedimientos estándares descritos anteriormente, se diluyó con dicloro-metano (DCM), y se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 60 por ciento de acetato de etilo/heptano) para obtener la 2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona (0.140 gramos, 0.178 milimoles). MS *m/z* 557.1 $(M+H)^+$. La purificación de SFC quiral se llevó a cabo como sigue; columna: OJ-H 21x250mm, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: 45 por ciento de metanol y NH_4OH 5 mM en CO_2, detección: recolección desencadenada por la masa para obtener enantiómeros solos pico 1 (P1), R_t: 2.77 minutos. MS *m/z* 557.1 $(M+H)^+$, y pico 2 (P2), R_t: 3.91 minutos. MS *m/z* 557.2 $(M+H)^+$. La desprotección de la ftalimida se llevó a cabo en cada

enantiómero por separado si mayor caracterización.

Intermediario 20

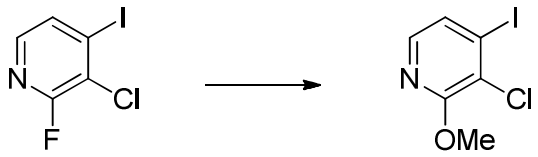
3-cloro-4-yodo-*N*,*N*-dimetil-piridin-2-amina



Una solución de 3-cloro-2-fluoro-4-yodopiridina (0.26 gramos, 1.01 milimoles), y dimetil-amina (2 M en tetrahidrofurano (THF), 1.5 mililitros, 3.03 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (3.4 mililitros) se agitó a durante 2 horas a 70°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se agregó agua y la mezcla acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida, para dar la 3-cloro-4-yodo-*N*,*N*-dimetil-piridin-2-amina (0.26 gramos, 0.922 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.75 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.33 (d, J = 5.0 Hz, 1 H), 3.00 (s, 6 H). MS *m/z* 282.9 $(M+H)^+$.

Intermediario 21

3-cloro-4-yodo-2-metoxi-piridina

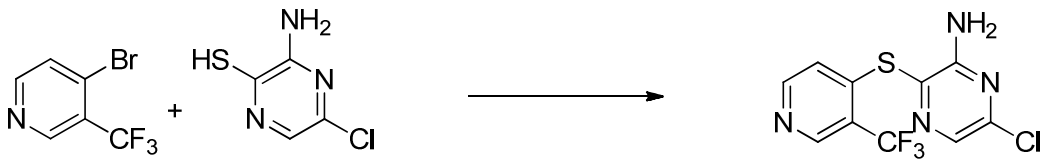


Una solución de 3-cloro-2-fluoro-4-yodopiridina (150 miligramos, 0.571 milimoles), y NaOMe (0.5 M en MeOH, 3.4

mililitros, 1.71 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (1.9 mililitros) se agitó a durante 1 hora a 70°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se agregó agua y la mezcla acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida, para dar la 3-cloro-4-yodo-2-metoxi-piridina (123 miligramos, 0.456 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.81 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.55 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 3.92 (s, 3 H). MS *m/z* 269.9 $(M+H)^+$.

Intermediario 22

6-cloro-3-((3-(trifluoro-metil)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina

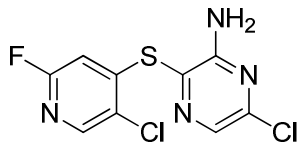
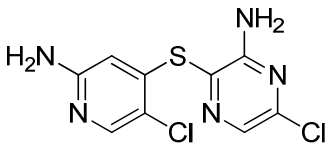
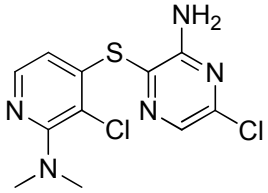
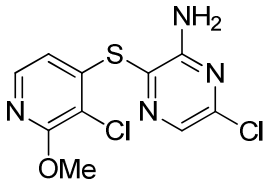


Una mezcla de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (750 miligramos, 4.09 milimoles), 4-bromo-3-(trifluoro-metil)-piridina (1.63 gramos, 5.31 milimoles), Xantphos (236 miligramos, 0.409 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (187 miligramos, 0.204 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.14 mililitros, 12.26 milimoles) en dioxano (desgasificado, 50 mililitros) se agitó durante 16 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (25 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice

(gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/DCM), para dar la 6-cloro-3-((3-(trifluoro-metil)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (722 miligramos, 2.35 milimoles), como un sólido amarillo claro. MS *m/z* 307.0 $(M+H)^+$.

Los siguientes compuestos se sintetizaron utilizando el procedimiento anterior o las modificaciones al procedimiento anterior utilizando el yodo- o bromo-piridilo correspondiente y tiolato.

Tabla 1

Intermediario 23

6-cloro-3-((3-cloro-piridazin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina

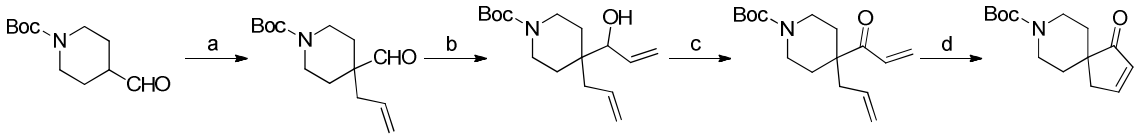


Una mezcla de 3-amino-5-cloro-pirazin-2-tiol (100 miligramos,

0.545 milimoles), 3,4-dicholoropiridazina (81 miligramos, 0.545 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.142 mililitros, 0.817 milimoles) en MeCN (5.5 mililitros) se agitó durante 12 horas a 50°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, el precipitado se recolectó mediante filtración al vacío, para dar la 6-cloro-3-((3-cloro-piridazin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (101 miligramos, 0.368 milimoles), como un sólido color café. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.90 (d, J = 5.4 Hz, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.31 (s, 2 H), 7.15 (d, J = 5.3 Hz, 1 H). MS m/z 274.1 $(M+H)^+$.

Intermediario 24

1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: Una mezcla de 4-formil-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (35.0 gramos, 164 milimoles), terbutóxido de litio (15.77 gramos, 197 milimoles), y bromuro de alilo (11.54 mililitros, 189 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (DMF) (328 mililitros) se agitó durante 1 hora a 0°C. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl:H_2O saturado acuoso (1:1, 500 mililitros), y se extrajo con Et_2O (50 mililitros, 5 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 25 por ciento de EtOAc/heptano), para dar 4-alil-4-formil-piperidin-1-

carboxilato de terbutilo (24 gramos, 95 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 9.52 (s, 1 H), 5.53-5.76 (m, 1 H), 4.96-5.19 (m, 2 H), 3.80 (br. s., 2 H), 2.97 (t, J = 11.49 Hz, 2 H), 2.26 (d, J = 7.33 Hz, 2 H), 1.95 (dt, J = 13.71, 3.13 Hz, 2 H), 1.38-1.58 (m, 11 H).

Paso b: A una solución de 4-alil-4-formil-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (24 gramos, 95 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (300 mililitros), se le agregó (a -78°C y bajo N_2) bromuro de vinil-magnesio (1 M en tetrahidrofurano (THF), 118 mililitros, 118 milimoles). La solución resultante se calentó lentamente hasta la temperatura ambiente en 1 hora. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl saturado acuoso (250 mililitros), y se extrajo con EtOAc (50 mililitros, 4 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar 4-alil-4-(1-hidroxi-alil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (26.7 gramos, 95 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 9.52 (s, 1 H), 5.56-5.75 (m, 1 H), 5.05-5.18 (m, 2 H), 3.80 (br. s., 2 H), 2.97 (t, J = 11.49 Hz, 2 H), 2.26 (d, J = 7.33 Hz, 2 H), 1.96 (dt, J = 13.83, 3.06 Hz, 2 H), 1.49-1.60 (m, 2 H), 1.41-1.49 (m, 9 H). Este compuesto se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

Paso c: Una mezcla de 4-alil-4-(1-hidroxi-alil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (26.7 gramos, 95 milimoles), y peryodinano Dess-Martin (44.3 gramos, 105 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (380 mililitros) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La

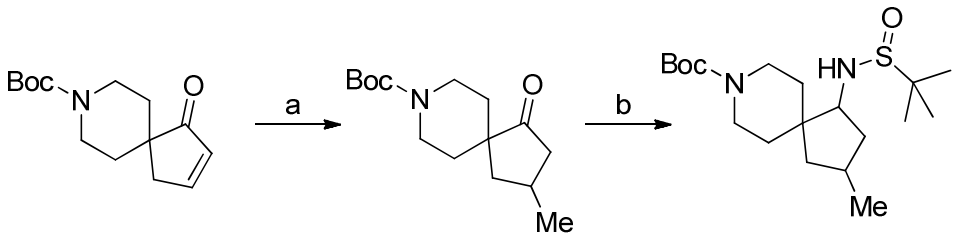
mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$:Na_2SO_3 saturado acuoso (1:1, 300 mililitros), y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (50 mililitros, 4 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para proporcionar un sólido blanco. Este sólido se suspendió en heptano (250 mililitros), y se sonicó durante 5 minutos. La suspensión blanca se filtró a través de un cojín de Celite y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar el 4-acriloil-4-alil-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (26.5 gramos, 95 milimoles), como un aceite amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 6.81 (dd, J = 16.93, 10.36 Hz, 1 H), 6.40 (dd, J = 16.80, 1.89 Hz, 1 H), 5.71 (dd, J = 10.36, 2.02 Hz, 1 H), 5.46-5.66 (m, 1 H), 4.91-5.14 (m, 2 H), 3.78 (br. s., 2 H), 2.96 (br. s., 2 H), 2.25-2.39 (m, 2 H), 1.97-2.15 (m, 2 H), 1.37-1.57 (m, 11 H). Este compuesto se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

Paso d: A una solución de 4-acriloil-4-alil-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (26.5 gramos, 95 milimoles) en tolueno (desgasificado, 850 mililitros), se le agregó catalizador de Grubbs II (2.02 gramos, 2.38 milimoles) en tolueno (desgasificado, 100 mililitros). La mezcla resultante se agitó durante 45 minutos a 85°C. El solvente se removió bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (20.76 gramos, 83 milimoles),

como un sólido color café. Una solución de este compuesto y DDQ (565 miligramos, 2.49 milimoles) en tolueno (540 mililitros) se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. La solución rojo brillante resultante se filtró a través de un cojín de Celite. Se agregó carbón (200 gramos), y la suspensión resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de un cojín de Celite y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (15.6 gramos, 62.3 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.63-7.74 (m, 1 H), 6.20 (dt, J = 5.81, 2.15 Hz, 1 H), 3.99-4.25 (m, 2 H), 2.92 (t, J = 11.62 Hz, 2 H), 2.63 (s, 2 H), 1.72-1.86 (m, 2 H), 1.49 (s, 9 H), 1.29 (d, J = 12.88 Hz, 2 H).

Intermediario 25

1-(1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: A una suspensión de 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (4.2 gramos, 16.71 milimoles), y CuI (6.37 gramos, 33.4 milimoles) en Et_2O (100 mililitros), se le agregó (a 0°C

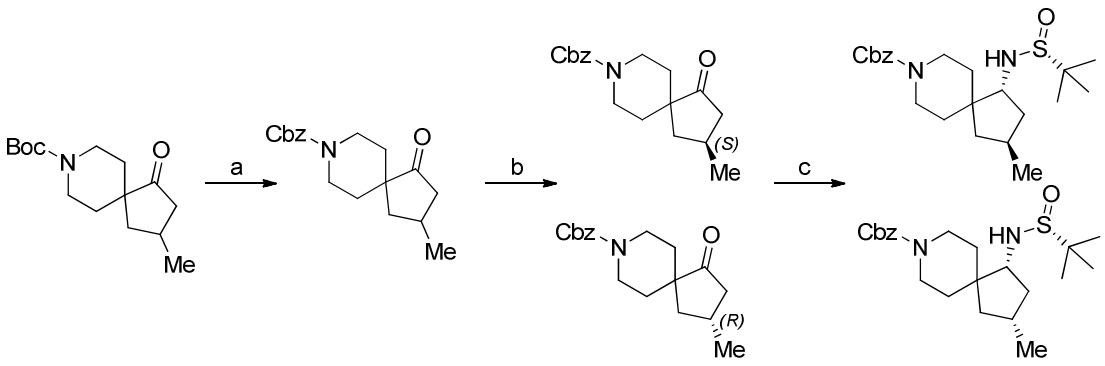
y bajo N_2) MeLi (1.6 M en tetrahidrofurano (THF), 31.3 mililitros, 50.1 milimoles). Después de agitar durante 90 minutos a 0°C, la mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl saturado acuoso y se extrajo con EtOAc (15 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (4.23 gramos, 15.82 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 3.89-4.00 (m, 1 H), 3.83 (d, J = 13.39 Hz, 1 H), 3.11 (ddd, J = 13.64, 10.36, 3.28 Hz, 1 H), 2.99 (ddd, J = 13.58, 10.42, 3.54 Hz, 1 H), 2.47-2.59 (m, 1 H), 2.19-2.36 (m, 2 H), 1.74-1.97 (m, 2 H), 1.50-1.65 (m, 2 H), 1.48 (s, 9 H), 1.33-1.44 (m, 2 H), 1.17 (d, J = 6.32 Hz, 3 H).

Paso b: Una solución de 3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (502 miligramos, 1.878 milimoles), etóxido de titanio(IV) (1.57 mililitros, 7.51 milimoles), y 2-metil-propan-2-sulfinamida (455 miligramos, 3.76 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (12.5 mililitros) se agitó durante 16 horas a 65°C. Después de enfriarse a 0°C, se agregó metanol (3 mililitros), seguido por borohidruro de litio (123 miligramos, 5.63 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1 hora. Se agregó NH_4Cl saturado acuoso lentamente para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de EtOAc (30 mililitros). La mezcla resultante

se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 75 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-(1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (463 miligramos, 1.243 milimoles), como un sólido blanco.

Intermediarios 26a/b

(1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo y (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo



Paso a: Una mezcla de 3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (4.23 gramos, 15.82 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (17 mililitros) en dicloro-metano (DCM) (80 mililitros) se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. Una mezcla del residuo resultante, di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (13.82 mililitros, 79 milimoles), y cloroformato de bencilo (3.39 mililitros, 23.73

milimoles) en dicloro-metano (DCM) (80 mililitros) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl saturado acuoso y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (25 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (4.58 gramos, 15.20 milimoles) como un aceite amarillo claro. MS *m*/*z* 302.2 $(M+H)^+$.

Paso b: El 3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (4.58 gramos, 15.20 milimoles) se purificó adicionalmente mediante SFC quiral como sigue: columna: IA 21 x 250 mm, velocidad de flujo: 70 gramos por minuto, fase móvil: 45 por ciento (9:1 EtOH:MeCN) en CO_2, detección: 220 nanómetros UV para dar el (*R*)-3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (2.02 gramos, 6.70 milimoles), R_t: 2.0 minutos; y el (*S*)-3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (2.11 gramos, 7.0 milimoles), R_t: 3.6 minutos.

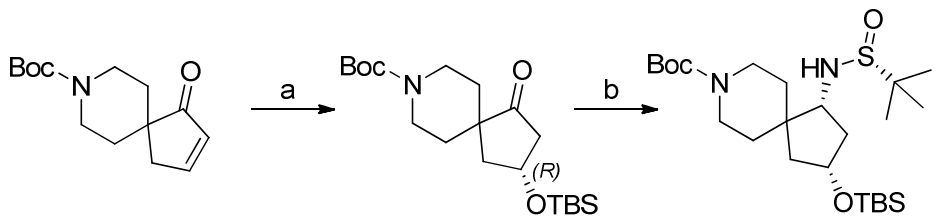
Paso c: Una solución de (*R*)-3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (2.02 gramos, 6.70 milimoles), etóxido de titanio(IV) (5.62 mililitros, 26.8 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (1.625 gramos, 13.4 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (67 mililitros) se agitó durante 16 horas a 65°C. Después de enfriarse a -78°C, se agregó metanol (12

mililitros), seguido por borohidruro de litio (0.438 gramos, 20.11 milimoles). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a -78°C a temperatura ambiente. Se agregó NH_4Cl saturado acuoso lentamente para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de EtOAc (100 mililitros). La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 5 al 90 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (1.94 gramos, 4.77 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 407.3 $(M+H)^+$.

Paso c (a partir de enantiómero): El mismo procedimiento se siguió empezando a partir del (*S*)-3-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo para dar el (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo.

Intermediario 27

(1*R*,3*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: Una mezcla de CuCl (142 miligramos, 1.432 milimoles),

(*S*)-TolBINAP (972 miligramos, 1.432 milimoles), y terbutóxido de sodio (138 miligramos, 1.432 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (60 mililitros) se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó B_2pin_2 (13.34 gramos, 52.5 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (20 mililitros), y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se agregó 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-dec-2-ene-8-carboxilato de terbutilo (12.0 gramos, 47.7 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (50 mililitros), seguido por metanol (3.9 mililitros, 95 milimoles). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se agregó H_2O (150 mililitros), seguida por sodio perborato (36.7 gramos, 239 milimoles), y la mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 1 hora a temperatura ambiente. La suspensión verde resultante se filtró a través de un cojín de Celite, se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ saturado acuoso: Na_2SO_3 saturado acuoso (1:1, 300 mililitros), y se extrajo con EtOAc (40 mililitros, 4 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar el (*R*)-3-hidroxi-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo crudo. La determinación enantiomérica de esta mezcla muestra 90 por ciento de exceso enantiomérico (ee) (R_t(*S*): 1.59 minutos, R_t(*R*): 1.80 minutos; SFC quiral; columna: IA 4.6 x 100 milímetros, velocidad de flujo: 70 gramos por minuto, fase móvil: 5-55 por ciento de metanol en CO_2, detección: 220 nanómetros UV).

Una mezcla de (*R*)-3-hidroxi-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-

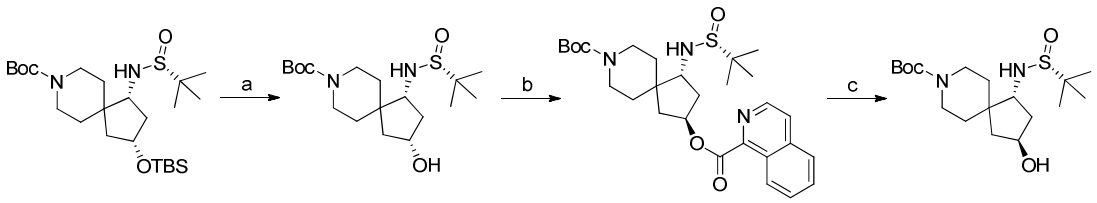
carboxilato de terbutilo crudo (teórico: 47.7 milimoles), imidazol (4.87 gramos, 71.6 milimoles), y TBSCl (8.99 gramos, 59.6 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (DMF) (120 mililitros) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl:H_2O saturado acuoso (1:1, 250 mililitros), y se extrajo con Et_2O (50 mililitros, 5 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (13.115 gramos, 34.2 milimoles) como un aceite incoloro que se solidificó después de reposar.

Paso b: Una solución de (*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (8 gramos, 20.86 milimoles), etóxido de titanio(IV) (17.49 mililitros, 83.0 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (5.06 gramos, 41.7 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (100 mililitros) se agitó durante 16 horas a 65°C. Después de enfriarse a -78°C, se agregó metanol (15 mililitros), seguido por borohidruro de litio (1.363 gramos, 62.6 milimoles). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a -78°C. Se agregó NH_4Cl saturado acuoso lentamente para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de EtOAc (100 mililitros). La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite. Los volátiles se

removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (1*R*,3*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (5.3 gramos, 10.84 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 489.3 $(M+H)^+$.

Intermediario 28

(1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: Una mezcla de (1*R*,3*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (3.84 gramos, 7.86 milimoles), y TBAF (1 M en tetrahidrofurano (THF); 8.64 mililitros, 8.64 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (40 mililitros) se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (2.94 gramos, 7.86 milimoles). MS *m/z* 375.3 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-

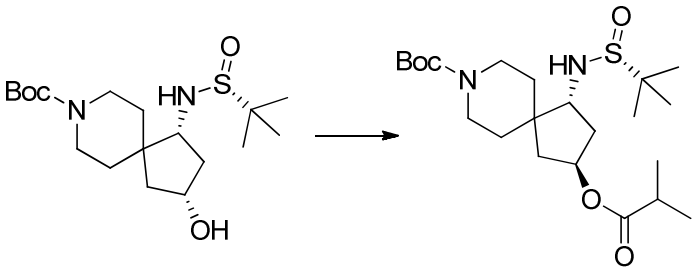
sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (3.0 gramos, 8.01 milimoles), trifenil-fosfina (4.2 gramos, 16.02 milimoles), y ácido isoquinolin-1-carboxílico (4.16 gramos, 24.03 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (80 mililitros), se le agregó DIAD (3.1 mililitros, 16.02 milimoles). La mezcla resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con EtOAc (50 mililitros), se filtró a través de un cojín de Celite, se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ saturado acuoso y se extrajo con EtOAc (25 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 4 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (2*S*,4*R*)-isoquinolin-1-carboxilato de 8-(terbutoxi-carbonil)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-2-ilo (3.65 gramos, 6.89 milimoles) como un sólido anaranjado. MS *m/z* 530.3 $(M+H)^+$.

Paso c: Una mezcla de (2*S*,4*R*)-isoquinolin-1-carboxilato de 8-(terbutoxi-carbonil)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-2-ilo (3.65 gramos, 6.89 milimoles), e hidróxido de litio (2.95 gramos, 68.9 milimoles) en THF:H_2O (1:1, 70 mililitros) se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl saturado acuoso y se extrajo con EtOAc (15 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó

mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (2.35 gramos, 6.27 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 275.2 (M+H-Boc)$^+$.

Intermediario 29

(1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-(isobutiriloxi)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo

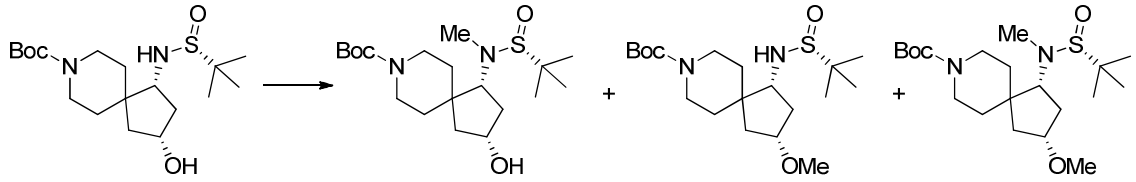


A una solución de (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (200 miligramos, 0.534 milimoles), trifenil-fosfina (280 miligramos, 1.068 milimoles), y ácido isobutírico (146 microlitros, 1.602 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (5 mililitros), se le agregó DIAD (208 microlitros, 1.068 milimoles). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con EtOAc (50 mililitros), se filtró a través de un cojín de Celite, se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ saturado acuoso, y se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó

mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 7 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-(isobutiriloxi)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (237 miligramos, 0.534 milimoles). MS *m/z* 345.3 $(M+H-Boc)^+$.

Intermediarios 30a/b/c

(1*R*,3*R*)-1-((R)-N,2-dimetil-propan-2-il-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo, (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo, y (1*R*,3*R*)-1-((R)-N,2-dimetil-propan-2-il-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo

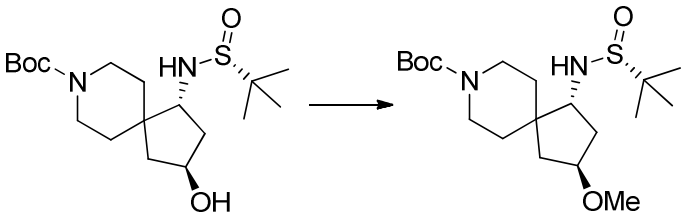


Una mezcla de (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (142 miligramos, 0.378 milimoles), y NaH (dispersión al 60 por ciento en aceite mineral, 19 miligramos, 0.473 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) se agitó durante 20 minutos a 0°C. Se agregó yodo-metano (47 microlitros, 0.756 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar el (1*R*,3*R*)-1-((R)-N,2-dimetil-

propan-2-il-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (15.0 miligramos, 0.039 milimoles). MS *m*/*z* 289.2 $(M+H\text{-}Boc)^+$; (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo. MS *m*/*z* 289.2 $(M+H\text{-}Boc)^+$; y (1*R*,3*R*)-1-((R)-N,2-dimetil-propan-2-il-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo. MS *m*/*z* 303.2 $(M+H\text{-}Boc)^+$.

Intermediario 31

(1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo

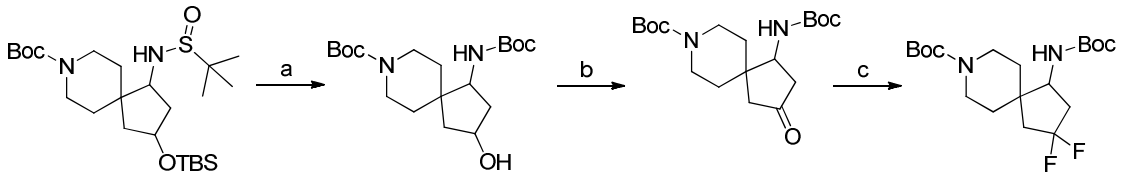


Una mezcla de (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (500 miligramos, 1.335 milimoles), óxido de plata(I) (340 miligramos, 1.468 milimoles), y yodo-metano (250 microlitros, 4.0 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (5 mililitros) se agitó (protegido de la luz) durante 24 horas a temperatura ambiente y 24 horas a 45°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de un cojín de Celite, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 5 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro-[4.5]-

decan-8-carboxilato de terbutilo (248 miligramos, 0.638 milimoles). MS *m*/*z* 289.2 $(M+H\text{-}Boc)^+$.

Intermediario 32

1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-3,3-difluoro-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico



Paso a: Una mezcla de 3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-(1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (365 miligramos, 0.746 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 1.86 mililitros, 7.46 milimoles) en metanol (MeOH) (4 mililitros) se agitó durante 1 hora a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar un sólido blanco. MS *m*/*z* 171.1 $(M+H)^+$. Una mezcla de este residuo, di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.6 mililitros, 14.92 milimoles), y Boc_2O (407 miligramos, 1.865 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (15 mililitros) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía NH_4Cl saturado acuoso y se extrajo con Et_2O (10 mililitros, 5 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 10 al 80 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-((terbutoxi-

carbonil)-amino)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (275 miligramos, 0.742 milimoles). MS *m*/*z* 271.3 $(M+H-Boc)^+$.

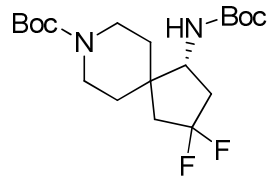
Paso b: Una mezcla de 1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (275 miligramos, 0.742 milimoles), y peryodinano Dess-Martin (472 miligramos, 1.113 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (7.5 mililitros) se agitó durante 2 horas a 0°C. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ saturado acuoso, y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (10 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 5 al 75 por ciento de EtOAc/heptano), para dar 1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-3-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (135 miligramos, 0.366 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 4.57 (d, J = 9.09 Hz, 1 H), 4.16 (d, J = 8.08 Hz, 1 H), 3.89-4.08 (m, 2 H), 2.77-2.93 (m, 2 H), 2.71 (dd, J = 18.95, 8.08 Hz, 1 H), 2.50 (d, J = 18.19 Hz, 1 H), 2.07-2.24 (m, 2 H), 1.76 (td, J = 12.82, 4.67 Hz, 1 H), 1.58-1.70 (m, 1 H), 1.42-1.53 (m, 18 H), 1.25-1.38 (m, 1 H).

Paso c: Una mezcla de 1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-3-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (95 miligramos, 0.258 milimoles), y desoxo-flúor (190 microlitros, 1.031 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (1 mililitro) se agitó durante 48 horas a 50°C. La mezcla se vertió en un embudo de separación que contenía

$NaHCO_3$ saturado acuoso/hielo y se extrajo con EtOAc (5 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-3,3-difluoro-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (52 miligramos, 0.133 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 4.55 (d, J = 9.35 Hz, 1 H), 3.78-4.02 (m, 3 H), 2.64-2.86 (m, 2 H), 2.38-2.59 (m, 1 H), 2.10 a 2.32 (m, 1 H), 1.79-2.10 (m, 2 H), 1.58 (qd, J = 12.72, 3.79 Hz, 1 H), 1.27-1.52 (m, 21 H).

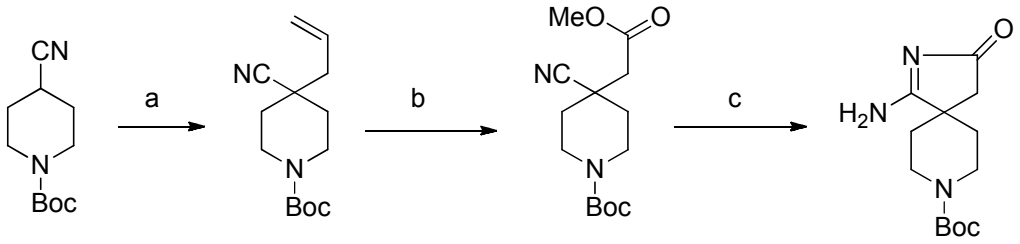
Los siguientes compuestos se sintetizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el (1*R*,3*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo quiralmente puro como el material de partida.

Tabla 2

Intermediario 33

1-amino-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-en-3-ona



Paso a: Una solución de di-isopropil-amina (0.320 mililitros, 2.245 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (4 mililitros) se enfrió a -78°C, y se trató con *n*-butil-litio (1.3 mililitros, 2.080 milimoles) entonces se agitó durante 5 minutos a -78°C, y se calentó a 0°C dando una solución de LDA para utilizarse subsiguientemente. A una solución a -78°C de 4-cianopiperidin-1-carboxilato de terbutilo (153 miligramos, 0.728 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros), se le agregó la solución preparada de LDA (2.8 mililitros) por goteo y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos a -78°C, luego durante 10 minutos a -10°C. La reacción se volvió a enfriar a -78°C y se agregó por goteo una solución de alil-Br (80 microlitros, 0.924 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (2 mililitros). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El acuoso se extrajo con EtOAc, las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 4-alil-4-cianopiperidin-1-carboxilato de terbutilo (40 miligramos, 0.16 milimoles), como un aceite incoloro. ^1H

RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 5.99-5.70 (m, 1 H), 5.23 (q, J = 1.1 Hz, 1 H), 5.20 (dtd, J = 3.3, 2.1, 1.1 Hz, 1 H), 3.96 (d, J = 13.7 Hz, 2 H), 2.86 (s, 2 H), 2.36 (dt, J = 7.5, 1.3 Hz, 2 H), 1.84 (dq, J = 13.7, 2.6 Hz, 2 H), 1.40 (s, 11 H).

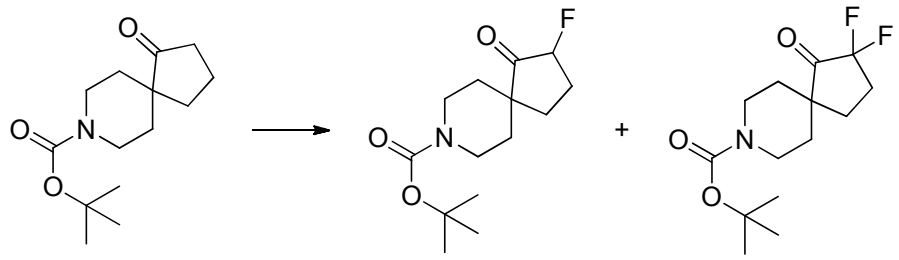
Paso b: Una solución de 4-alil-4-cianopiperidin-1-carboxilato de terbutilo (22 miligramos, 0.088 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (1.5 mililitros), y NaOH (2.5 M en MeOH, 0.176 mililitros, 0.439 milimoles) se aireó con ozono (aireador de difusión) a -78°C durante 30 minutos. La reacción se purgó con oxígeno entonces se dividió entre agua y dicloro-metano (DCM). Las fases se separaron, la orgánica se recolectó y la acuosa se extrajo con dicloro-metano (DCM) (5 mililitros, 2 veces). Las fases orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se absorbió en metanol (MeOH), y se agitó durante 24 horas a 65°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 70 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 4-ciano-4-(2-metoxi-2-oxo-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (21 miligramos, 0.074 milimoles), como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 4.14 (s, 2 H), 3.75 (s, 3 H), 3.08 (t, J = 12.9 Hz, 2 H), 2.62 (s, 2 H), 2.15-2.02 (m, 2 H), 1.59-1.48 (m, 2 H), 1.46 (s, 9 H). TLC (50 por ciento de EtOAc/heptano (teñido w/KMnO4), R_f = 0.5).

Paso c: Una solución de 4-ciano-4-(2-metoxi-2-oxo-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (287 miligramos, 1.017 milimoles),

y NH_3 (7 N en MeOH, 3.0 mililitros, 21.00 milimoles) en metanol (MeOH) (5 mililitros) se agitó en un tubo sellado durante 48 horas a 120°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar un sólido blanco. El sólido se trituró con EtOAc, y se filtró, para dar el 1-amino-3-oxo-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-ene-8-carboxilato de terbutilo (157 miligramos, 0.587 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.44 (s, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 3.98 (d, J = 13.3 Hz, 2 H), 2.71 (s, 2 H), 2.34 (s, 2 H), 1.81 (td, J = 12.9, 4.6 Hz, 2 H), 1.49-1.30 (m, 11 H). MS *m/z* 268 $(M+H)^+$.

Intermediarios 34a/b

2-fluoro-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico y 2,2-difluoro-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo

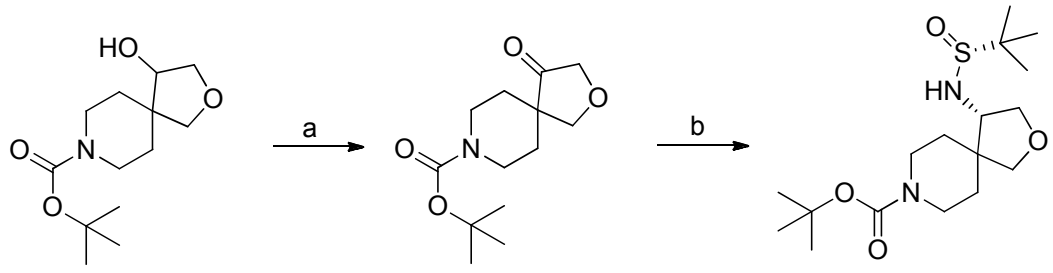


A una solución a -78°C de NaHMDS (1 M en tetrahidrofurano (THF), 8.68 mililitros, 8.68 milimoles), se le agregó una solución de 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (2.0 gramos, 7.89 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (5 mililitros). Después de agitar durante 30 minutos a esta temperatura, se agregó una solución de *N*-fluoro-bencen-sulfonamida (2.49

gramos, 7.89 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros). Después de 3 horas agitando a -78°C, se diluyó con $NaHCO_3$ saturado acuoso (100 mililitros), y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (100 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 25 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 2-fluoro-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico (351 miligramos, 1.29 milimoles). MS *m/z* 272.1 $(M+H)^+$ y difluoro-cetona la cual se co-eluye con el material de partida. Las fracciones co-eluidas combinadas de difluoro-cetona/partida se volvieron a purificar mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 5 por ciento de MeOH/DCM), para dar el 2,2-difluoro-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (573 miligramos, 1.98 milimoles). MS *m/z* 290.1 $(M+H)^+$.

Intermediario 35

(*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: Una solución de 4-hidroxi-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-

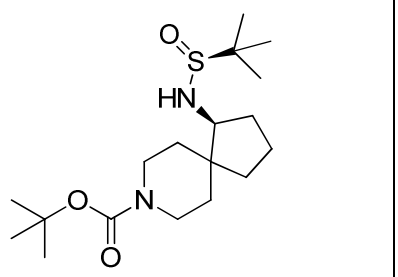
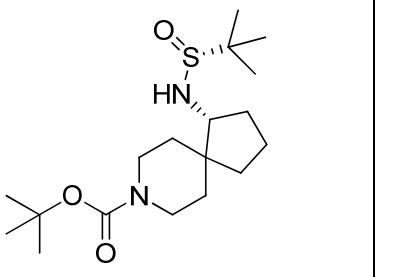
decan-8-carboxilato de terbutilo (544 miligramos, 2.11 milimoles), y peryodinano Dess-Martin (1.39 gramos, 3.17 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (10 mililitros) se agitó durante 2 horas a 0°C. Se agregó $NaHCO_3$ saturado acuoso:$Na_2S_2O_3$ saturado acuoso (1:1, 10 mililitros), la fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con dicloro-metano (DCM) (10 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (470 miligramos, 1.84 milimoles), como un aceite incoloro, el cual se cristalizó al reposar. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 4.08 (s, 2 H), 4.05 (s, 2 H), 3.88 (dt, *J* = 13.7, 4.9 Hz, 2 H), 3.12 (ddd, *J* = 13.6, 9.8, 3.6 Hz, 2 H), 1.75 (ddd, *J* = 13.9, 9.7, 4.2 Hz, 2 H), 1.58-1.51 (m, 2 H), 1.48 (s, 9 H). MS *m/z* 256.2 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (220 miligramos, 0.86 milimoles), etóxido de titanio(IV) (725 microlitros, 3.45 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (209 miligramos, 1.72 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (4 mililitros) se agitó durante 1 hora a 90°C. Después de enfriarse a 0°C, se agregó borohidruro de litio (23 miligramos, 1.06 milimoles). Después de agitar durante 30 minutos. La mezcla de reacción se apagó mediante la adición de metanol. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con

salmuera y se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 4 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (170 miligramos, 0.47 milimoles). MS *m/z* 361.1 $(M+H)^+$.

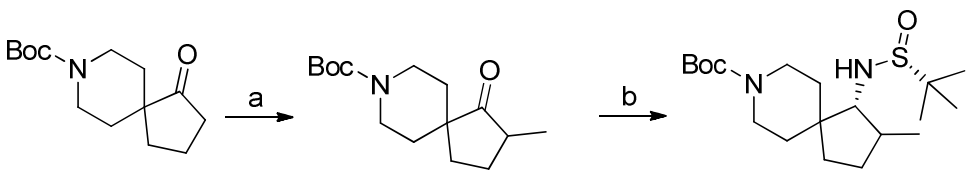
Los siguientes compuestos se sintetizaron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la cetona y sulfonamida correspondientes.

Tabla 3

Intermediario 36

(1*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



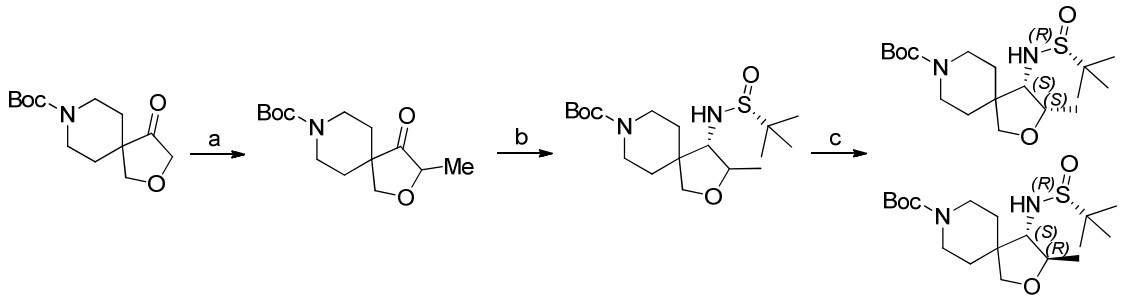
Paso a: A una solución de 1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (2.2 gramos, 8.68 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (24 mililitros), se le agregó LiHMDS (1 M en tetrahidrofurano (THF), 8.68 mililitros, 8.68 milimoles) de 0 a 5°C. Después de agitar la mezcla durante 30 minutos a esta temperatura, se agregó yodo-metano (0.543 mililitros, 8.68 milimoles). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, y se apagó con $NaHCO_3$ saturado acuoso. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El aceite color café resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 25 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 2-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato terbutilo (1.3 gramos, 4.86 milimoles). MS *m/z* 268.1. $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de 2-metil-1-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (267 miligramos, 0.999 milimoles), etóxido de titanio(IV) (837 microlitros, 3.99 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (242 miligramos, 1.997 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros) se agitó durante 24 horas a 85°C. Después de enfriarse a -78°C, se agregó metanol (12 mililitros), seguido por borohidruro de litio (65.3 miligramos, 3.00 milimoles). La mezcla resultante se agitó a -78°C a temperatura ambiente durante 16 horas. Se agregó NH_4Cl saturado acuoso lentamente para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de EtOAc (100 mililitros). La

mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 60 por ciento de EtOAc/heptano(que contenía 0.25 por ciento de Et_3N)), para dar el (1*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (92 miligramos, 0.247 milimoles). MS *m/z* 373.1 $(M+H)^+$.

Intermediarios 37a/b

(3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato terbutilo y (3*R*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato terbutilo



Paso a: A una solución de 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (2.47 gramos, 9.67 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (24 mililitros), se le agregó LiHMDS (1 M en tetrahidrofurano (THF), 9.67 mililitros, 9.67 milimoles) a -78°C. Después de agitar la mezcla durante 30 minutos a esta temperatura, se agregó yodo-metano (0.605 mililitros, 9.67 milimoles) en

tetrahidrofurano (THF) (10 mililitros). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, y se apagó con $NaHCO_3$ saturado acuoso. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El aceite color café resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 20 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 3-metil-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (318 miligramos, 1.181 milimoles). MS *m/z* 270.2. $(M+H)^+$.

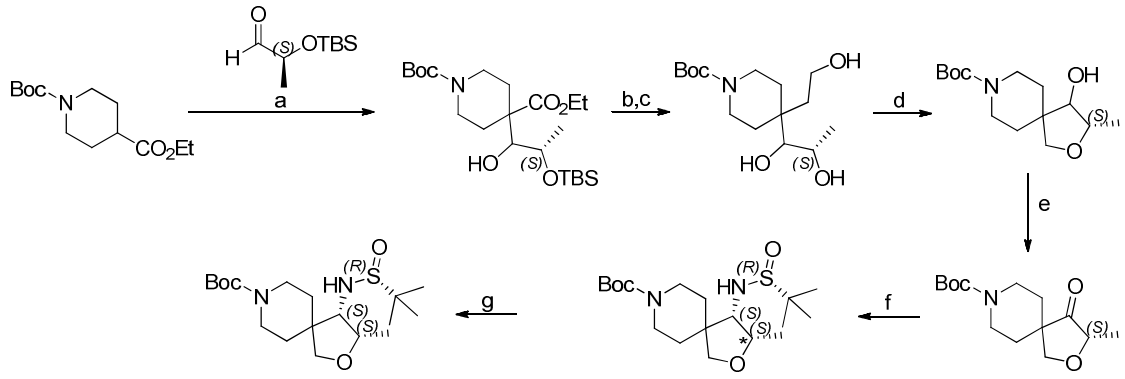
Paso b: Una solución de 3-metil-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (318 miligramos, 1.181 milimoles), etóxido de titanio(IV) (990 microlitros, 4.72 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (286 miligramos, 2.361 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (4 mililitros) se agitó durante 90 minutos a 90°C. Después de enfriarse a 0°C, se agregó en una porción borohidruro de litio (65.3 miligramos, 3.00 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se agregó lentamente NH_4Cl saturado acuoso para apagar el exceso de borohidruro seguido por la adición de EtOAc (25 mililitros). La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite. La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ saturado acuoso, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el

(4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (88 miligramos, 0.235 milimoles). MS *m/z* 375.2 $(M+H)^+$.

Paso c: Los diaestereómeros se separaron mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) quiral como sigue: columna: LUXC4 30 x 250 mm, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: metanol al 20 por ciento en CO_2, detección: 210 nanómetros para dar el (3*R*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo , R_t = 4.0 minutos; y el (3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo , R_t = 4.55 minutos.

Intermediario 38

(3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo



Paso a: A una solución a -10°C de di-isopropil-amina (23.4 mililitros, 166 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (220 mililitros), se le agregó *n*BuLi (2.5 M en hexano, 64.1 mililitros, 160 milimoles) por

goteo. Después de agitar durante 30 minutos a esta temperatura, se agregó 4-etil-piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terbutilo (27.5 gramos, 107 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (50 mililitros), por goteo y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a 0°C. Se agregó (*S*)-2-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-propanal (20.47 mililitros, 102 milimoles), y la mezcla se agitó durante 1 hora a 0°C y 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con $NaHCO_3$ saturado acuoso:H_2O (1:4, 125 mililitros), se agregó EtOAc (50 mililitros), y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (100 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y el solvente se removió bajo presión reducida. El residuo resultante se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m*/*z* 346.4 $(M+H-Boc)^+$.

Paso b: A una solución de 4-etilo 4-((2S)-2-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-hidroxi-propil)-piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terbutilo crudo (95 gramos, 214 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (600 mililitros), se le agregó en porciones $LiBH_4$ (7.0 gramos, 321 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de enfriarse a 0°C, se agregó $NaHCO_3$ saturado acuoso:H_2O (1:2, 150 mililitros), y la mezcla resultante se agitó vigorosamente hasta que no se observó más burbujeo. Se agregó EtOAc (100 mililitros), la mezcla se filtró, las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (50 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los

volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar el 4-((2*S*)-2-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-hidroxi-propil)-4-(2-hidroxi-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (64.8 gramos, 161 milimoles), el cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

Paso c: Una solución de 4-((2*S*)-2-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-hidroxi-propil)-4-(2-hidroxi-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (64.8 gramos, 161 milimoles), y TBAF (1 M en tetrahidrofurano (THF), 242 mililitros, 242 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (500 mililitros) se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se agregaron $NaHCO_3$ saturado acuoso:H_2O (1:2, 150 mililitros), las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (100 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 20 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 4-((2S)-1,2-dihidroxi-propil)-4-(2-hidroxi-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (39.25 gramos, 136 milimoles), como un aceite semi-sólido incoloro.

Paso d: A una suspensión de NaH a 0°C (10.60 gramos, 424 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (600 mililitros), se le agregó por goteo una solución de 4-((2S)-1,2-dihidroxi-propil)-4-(2-hidroxi-etil)-piperidin-1-carboxilato de terbutilo (35.06 gramos, 121 milimoles), y TsCl (23.10 gramos, 121 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (200 mililitros). La mezcla resultante se agitó durante 1 hora a 0°C. Se agregó lentamente NH_4Cl saturado acuoso (~5 mililitros), a -20°C, y

la reacción se agitó vigorosamente hasta que no se observó más burbujeo. En este punto, se agregó NH_4Cl saturado acuoso (100 mililitros), seguido por salmuera (100 mililitros), y la mezcla se extrajo con EtOAc (100 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y el solvente se removió bajo presión reducida, para dar el (3*S*)-4-hidroxi-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (32.19 gramos, 119 milimoles), el cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m*/*z* 171.1 $(M\text{-}Boc)^-$.

Paso e: Una solución de (3*S*)-4-hidroxi-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (32.19 gramos, 119 milimoles), y peryodinano Dess-Martin (67.4 gramos, 154 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (300 mililitros) se agitó durante 2 horas a 0°C. Después de calentar a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 40 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (*S*)-3-metil-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (27.68 gramos, 92 milimoles), como un aceite amarillo pálido. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 4.09 (d, J = 9.60 Hz, 1 H), 3.66-3.86 (m, 4 H), 3.03 (ddd, J = 13.77, 9.73, 3.79 Hz, 1 H), 2.90 (ddd, J = 13.64, 10.23, 3.41 Hz, 1 H), 1.68 (ddd, J = 13.83, 9.92, 4.29 Hz, 1 H), 1.41-1.59 (m, 2 H), 1.30-1.40 (m, 10 H), 1.20-1.25 (m, 3 H).

Paso f: Una solución de (3*S*)-3-metil-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (22.52 gramos miligramos, 84

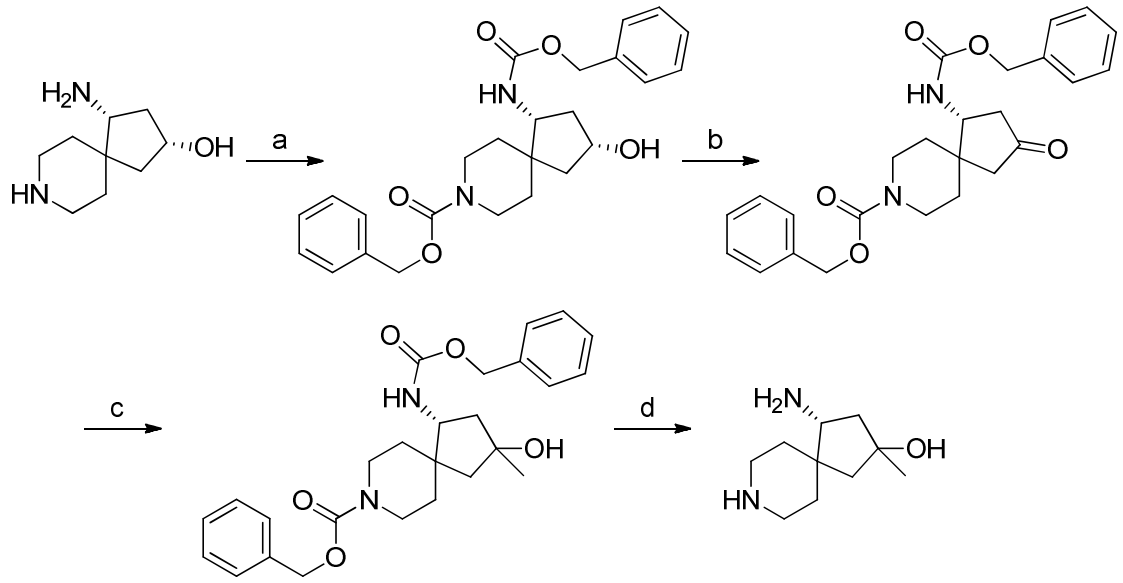
milimoles), etóxido de titanio(IV) (70.1 mililitros, 334 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (21 gramos, 173 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (300 mililitros) se agitó durante 21 horas a 90°C. Después de enfriarse a -4°C, se agregó metanol (30 mililitros), seguido por la adición por goteo (manteniendo temperatura de la reacción debajo de 2°C) de borohidruro de litio (1.82 gramos, 84 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a -4°C. Se agregó lentamente NH_4Cl saturado acuoso para apagar el exceso de borohidruro (formado como tipo de gelatina), seguido por la adición de EtOAc (500 mililitros). La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos a temperatura ambiente, y entonces se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con EtOAc (500 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo como una mezcla diaestereomérica 95:5 (diaestereómero menor (3*R*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo).

Paso g: Los diaestereómeros se separaron mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) quiral como sigue: columna: LC-4 30 x 250 mm, velocidad de flujo: 100 gramos por minuto, fase móvil: 30 por ciento de metanol en CO_2, detección: 225 nanómetros, R_t: 0.95 minutos (diaestereómero menor R_t: 0.55

minutos), para dar el (3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (19 gramos, 50.68 milimoles). MS *m*/*z* 375.2.

Intermediario 39

(4*R*)-4-amino-2-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-2-ol



Paso a: Una mezcla de sal de diclorhidrato de (2R,4R)-4-amino-8-azaspiro-[4.5]-decan-2-ol (623 miligramos, 2.56 milimoles), Na_2CO_3 (1357 miligramos, 12.80 milimoles), y CbzCl (1048 miligramos, 6.14 milimoles) en H_2O (5 mililitros) se agitó vigorosamente durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó tetrahidrofurano (THF) (0.5 mililitros), y la mezcla resultante se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y dicloro-metano (DCM). La fase acuosa separada se extrajo con dicloro-metano (DCM) (10 mililitros, 2 veces). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se

concentra bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (1*R*,3*R*)-1-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (940 miligramos, 2.14 milimoles) como una espuma blanca. MS *m/z* 439.3 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de (1*R*,3*R*)-1-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-3-hidroxi-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (440 miligramos, 1.003 milimoles), y peryodinano Dess-Martin (638 miligramos, 1.505 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (6 mililitros) se agitó durante 1 hora a 0°C y durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con $NaHCO_3$ saturado acuoso:$Na_2S_2O_3$ saturado acuoso (1:1, 25 mililitros). La fase acuosa separada se extrajo con dicloro-metano (DCM) (15 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, y se concentra bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 70 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el (*R*)-1-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-3-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (415 miligramos, 0.951 milimoles) como una espuma blanca. MS *m/z* 437.2 $(M+H)^+$.

Paso c: A una solución de MeLi (1.2 M en tetrahidrofurano (THF), 2.61 mililitros, 3.13 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (15 mililitros), se le agregó por goteo (*R*)-1-(((benciloxi)-carbonil)-amino)-3-oxo-8-azaspiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (415

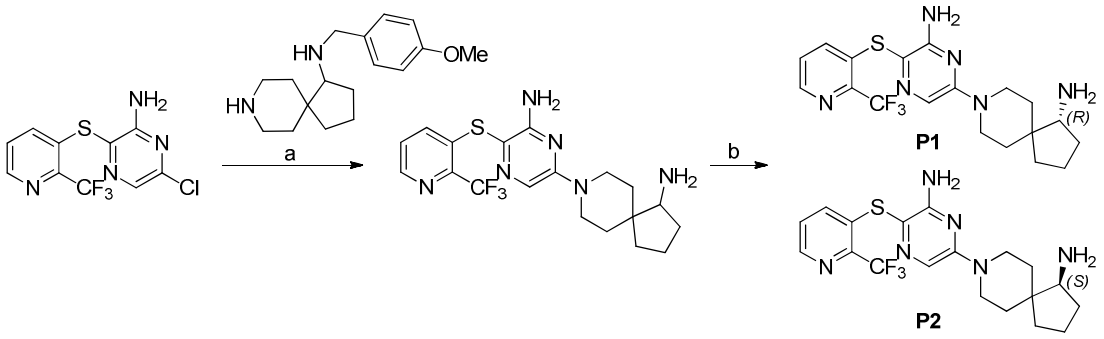
miligramos, 0.951 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (5 mililitros) de -30°C a -40°C. La mezcla resultante se agitó durante 20 minutos de -30°C a -40°C. La mezcla se diluyó con $NaHSO_4$ (solución al 10 por ciento en H_2O), se diluyó con EtOAc, y se dejó calentar a temperatura ambiente bajo agitación vigorosa. La mezcla se diluyó con $NaHCO_3$ saturado acuoso y la fase acuosa separada se extrajo con EtOAc (15 mililitros, 1 vez). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentra bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante (313 miligramos), Na_2CO_3 (498 miligramos, 4.70 milimoles), y CbzCl (295 miligramos, 1.729 milimoles) en agua (10 mililitros), y tetrahidrofurano (THF) (1 mililitro) se agitó vigorosamente durante 3 días a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, y la fase acuosa separada se extrajo con EtOAc (15 mililitros, 3 veces). Las fases orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar dos diaestereómeros: diaestereómero A (112 miligramos, 0.25 milimoles), como un semisólido incoloro, MS *m/z* 453.3 $(M+H)^+$ and diaestereómero B (45 miligramos, 0.010 milimoles) como una espuma/sólido blanco, MS *m/z* 453.3 $(M+H)^+$.

Paso d: Una mezcla de diaestereómero A (50 miligramos, 0.11 milimoles), y Pd/C (10 por ciento en peso; 12 miligramos, 0.011 milimoles) en metanol (MeOH) (8 mililitros) se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Se agregó Celite y

la mezcla se filtró a través de un cojín de Celite seguido por lavado con dicloro-metano (DCM). El filtrado se concentró bajo presión reducida, para dar el (4*R*)-4-amino-2-metil-8-azaspiro-[4.5]-decan-2-ol como un sólido incoloro el cual se utilizó sin mayor purificación. MS *m/z* 185.2 $(M+H)^+$.

Ejemplo 1

(*S*), y (*R*) 6-(4-(amino-metil)-4-metil-piperidin-1-il)-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina



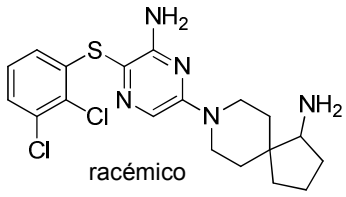
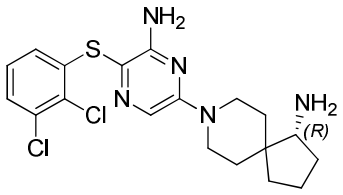
Paso a: Una solución de 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (200 miligramos, 0.652 milimoles), y *N*-(4-metoxi-bencil)-8-azaspiro-[4.5]-decan-1-amina (358 miligramos, 1.304 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (3 mililitros) se agitó durante 60 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en ácido trifluoro-acético (TFA) (3 mililitros), y la solución se agitó en un reactor de microondas durante 1 hora a 160°C and durante 15 minutos a 180°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de

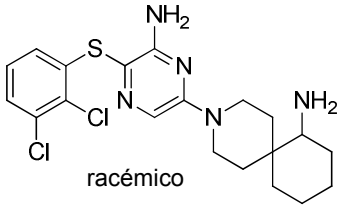
acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la 6-(4-(amino-metil)-4-metil-piperidin-1-il)-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (73 miligramos, 0.482 milimoles; 83 por ciento puro basándose en HRMS). 19 miligramos de este compuesto se purificaron adicionalmente mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), para dar el compuesto del título puro (9.5 miligramos). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.29 (dd, J = 4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.48 (s, 1 H), 7.19-7.41 (m, 2 H), 4.06-4.26 (m, 2 H), 2.89-3.14 (m, 2 H), 2.71 (t, J = 7.33 Hz, 1 H), 1.86-2.00 (m, 1 H), 1.73-1.84 (m, 1 H), 1.43-1.72 (m, 5 H), 1.27-1.42 (m, 2 H), 1.17-1.27 (m, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.45 (s). HRMS calculado para $C_{19}H_{24}N_6F_3S$ $(M+H)^+$ 425.1735, encontrado 425.1753. IC_{50} es 0.023 μM.

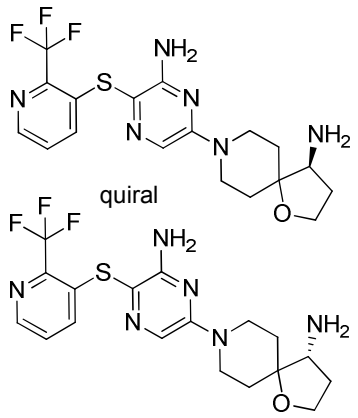
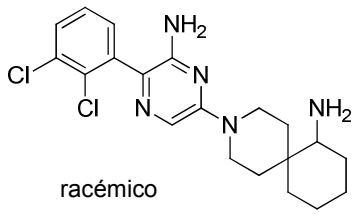
Paso b: La purificación de SFC quiral del compuesto anterior del título se llevó a cabo como sigue; columna: ID 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 35 por ciento de metanol y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 270 nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)= 4.9 minutos; IC_{50} es 0.011 μM y R_t (P2)= 6.4 minutos; IC_{50} es 0.167 μM.

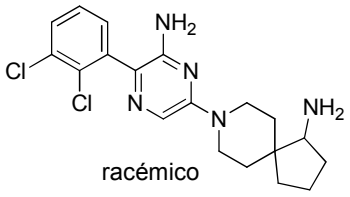
Los siguientes los compuestos de la fórmula I, como se identifican en la Tabla 4, se hicieron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el derivado de tiopirazin-2-amina y la amina protegida correspondientes.

Tabla 4

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
2	 racémico	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.62 (s, 1 H), 7.39 (d, J = 7.83 Hz, 1 H), 7.22 (t, J = 8.08 Hz, 1 H), 6.57 (d, J = 7.83 Hz, 1 H), 6.13 (s, 2 H), 4.03-4.21 (m, 2 H), 2.96-3.13 (m, 2 H), 2.63-2.72 (m, 1 H), 1.73-1.89 (m, 2 H), 1.48-1.69 (m, 3 H), 1.13-1.40 (m, 5 H). HRMS calculado para $C_{19}H_{24}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 424.1129, encontrado 424.1131.	0.025
3		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.63 (s, 1 H), 7.39 (d, J = 8.08 Hz, 1 H), 7.22 (t, J = 7.96 Hz, 1 H), 6.58 (d, J = 8.08 Hz, 1 H), 6.13 (s, 2 H), 4.06-4.21 (m, 2 H), 2.96-3.13 (m, 2	0.010

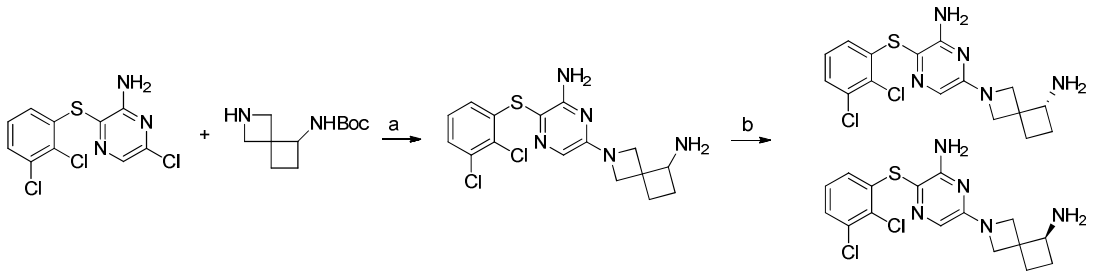
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		H), 2.71 (t, J = 7.45 Hz, 1 H), 1.71-1.93 (m, 2 H), 1.45-1.64 (m, 3 H), 1.13-1.42 (m, 5 H). HRMS calculado para $C_{19}H_{24}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 424.1129, encontrado 424.1129.	
4	 racémico	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.59 (s, 1 H), 7.39 (dd, J = 8.08, 1.26 Hz, 1 H), 7.18-7.25 (m, 1 H), 6.57 (dd, J = 8.08, 1.52 Hz, 1 H), 6.11 (s, 2 H), 3.94-4.05 (m, 2 H), 3.07-3.21 (m, 2 H), 2.40 (d, J = 4.55 Hz, 1 H), 1.81-2.00 (m, 2 H), 1.13-1.67 (m, 9 H), 0.96-1.07 (m, 1 H). HRMS calculado para $C_{20}H_{26}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 438.1286, encontrado 438.1283.	0.032

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
5	 quiral	^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 8.35 (dd, J = 4.5, 1.5 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 7.42 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 7.24-7.15 (m, 1 H), 4.77 (s, 2 H), 4.13 (m, 2 H), 3.90 (m, 1 H), 3.78 (m, 1 H), 3.28-3.17 (m, 2 H), 3.06 (t, J = 6.9 Hz, 1 H), 2.27 (2, 1 H), 1.74-1.63 (m, 1 H), 1.63-1.54 (m, 3 H), 1.53-1.46 (m, 1 H), 1.21 (br. s, 2 H). HRMS calculado para $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 427.1528, encontrado 427.1526.	0.349
6	 racémico	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.61 (dd, J = 7.96, 1.39 Hz, 1 H), 7.43-7.48 (m, 1 H), 7.35-7.42 (m, 1 H), 7.27-7.33 (m, 1 H), 5.57 (br. s., 2 H), 3.94	0.074

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		(dd, J = 12.76, 5.18 Hz, 2 H), 3.00-3.14 (m, 2 H), 2.40 (d, J = 4.55 Hz, 1 H), 1.79-1.99 (m, 2 H), 1.15-1.66 (m, 9 H), 0.96-1.07 (m, 1 H). HRMS calculado para $C_{20}H_{26}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 406.1565, encontrado 406.1563	
7	 racémico	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.61 (dd, J = 7.96, 1.64 Hz, 1 H), 7.48 (s, 1 H), 7.35-7.42 (m, 1 H), 7.28-7.33 (m, 1 H), 5.53-5.63 (m, 2 H), 4.01-4.13 (m, 2 H), 2.99 (qd, J = 12.38, 2.78 Hz, 2 H), 1.71-1.91 (m, 2 H), 1.47-1.66 (m, 4 H), 1.13-1.40 (m, 5 H). HRMS calculado para $C_{19}H_{24}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 392.1409, encontrado 392.1417.	0.073

Ejemplo 8

(R), y (S)-2-(6-amino-5-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-2-azaspiro-[3.3]-heptan-5-amina



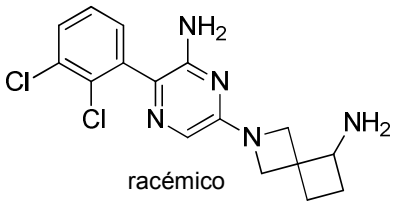
Paso a: Una solución de 6-cloro-3-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-amina (140 miligramos, 0.457 milimoles), y 2-azaspiro-[3.3]-heptan-5-il-carbamato de terbutilo (sal de HCl, 125 miligramos, 0.502 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1 mililitro) se agitó durante 24 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en dicloro-metano (DCM) (5 mililitros), se agregó ácido trifluoro-acético (TFA) (0.5 mililitros), y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la 2-(6-amino-5-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-2-azaspiro-[3.3]-heptan-5-amina (75 miligramos, 0.186 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.31 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 7.18 (s, 1 H), 7.11 (t, J = 8.03 Hz, 1 H), 6.60 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 4.45 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 4.03 (d, J = 9.03 Hz, 1 H), 3.96 (d, J =

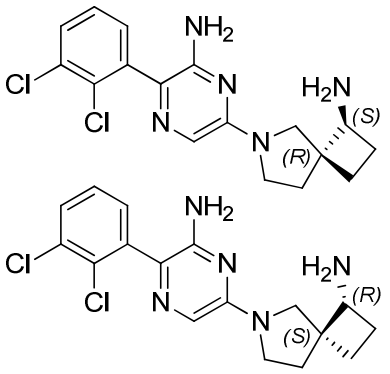
9.03 Hz, 1 H), 3.90 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 3.34-3.39 (parcialmente sobrepuesto con solvente, m, 1 H), 2.12-2.25 (m, 1 H), 1.90 a 2.11 (m, 2 H), 1.52-1.67 (m, 1 H). HRMS calculado para $C_{16}H_{18}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 382.0660, encontrado 382.0585. IC_{50} es 5.36 µM.

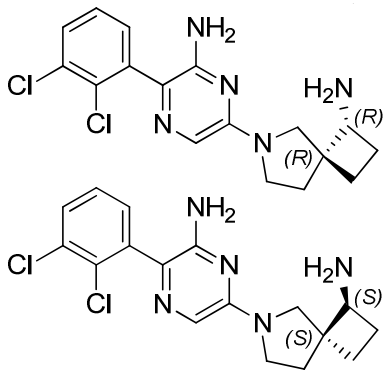
Paso b: 2-(6-amino-5-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-2-azaspiro-[3.3]-heptan-5-amina (53.9 miligramos, 0.141 milimoles) se purificó adicionalmente mediante SFC quiral; columna: OJ-H 21x250 mm, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: 26 por ciento de metanol y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 269 nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)= 3.7 minutos; IC_{50} es 17.49 µM y R_t (P2)= 4.7 minutos.; IC_{50} es 3.31 µM.

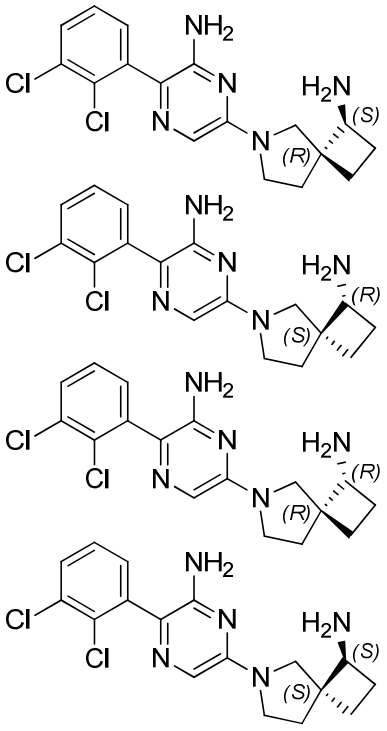
Los siguientes compuestos de la fórmula I, como se identifican en la Tabla 5, se hicieron utilizando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el derivado de pirazin-2-amina y la amina protegida correspondientes.

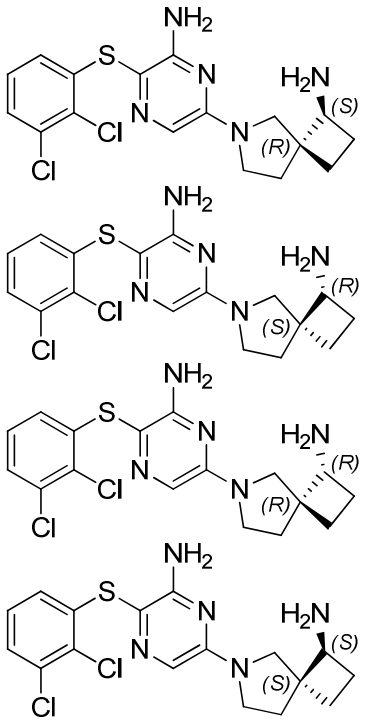
Tabla 5

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (µM)
9	 racémico	^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.50 (dd, J = 7.91, 1.63 Hz, 1 H), 7.29 (t, J = 7.91 Hz, 1 H), 7.21 (dd, J = 7.65, 1.63 Hz, 1 H), 6.98 (s, 1 H),	1.106

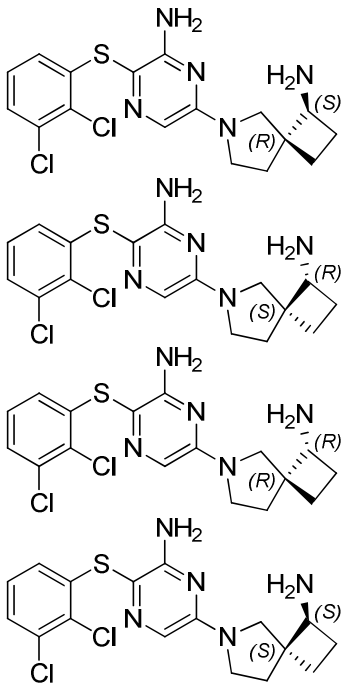
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		4.29 (d, J = 8.53 Hz, 1 H), 3.89 (d, J = 8.53 Hz, 1 H), 3.82 (d, J = 8.53 Hz, 1 H), 3.76 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 3.27 (parcialmente sobrepuesto con solvente, t, J = 8.41 Hz, 1 H), 2.03-2.16 (m, 1 H), 1.92-2.03 (m, 1 H), 1.82-1.92 (m, 1 H), 1.45-1.61 (m, 1 H). HRMS calculado para $C_{16}H_{18}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 350.0939, encontrado 350.0876.	
10a y 10b		La purificación de SFC quiral se llevó a cabo como sigue; columna: Celulosa LUX-2 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 45	P1= 0.548 P2= 0.189

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		por ciento de metanol y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 354 nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)=3.3 minutos, R_t (P2)=5.6 minutos.^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.61 (dd, J = 7.78, 1.76 Hz, 1 H), 7.40 (t, J = 7.78 Hz, 1 H), 7.35 (dd, J = 7.53, 1.76 Hz, 1 H), 7.22 (s, 1 H), 3.80 (d, J = 10.79 Hz, 1 H), 3.35-3.61 (m, 4 H), 2.18-2.36 (m, 1 H), 2.05-2.18 (m, 1 H), 1.95-2.05 (m, 1 H), 1.66-1.90 (m, 3 H). HRMS calculado para $C_{17}H_{20}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$	

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		364.1096, encontrado 364.1078.	
11a y 11b		La purificación de SFC quiral se llevó a cabo como sigue; columna: AD-H 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 50 por ciento de metanol y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 354 nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)=2.2 minutos, R_t (P2)=3.6 minutos. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.48 (dd, J = 7.78, 1.76 Hz, 1 H), 7.28 (t, J = 7.78 Hz, 1 H), 7.22 (dd, J = 7.53,	P1= 0.365 P2= 0.145

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		1.76 Hz, 1 H), 7.04 (s, 1 H), 3.55 (br. s., 1 H), 3.28-3.42 (m, 4 H), 2.05-2.20 (m, 2 H), 1.79-1.89 (m, 1 H), 1.60-1.73 (m, 3 H). HRMS calculado para $C_{17}H_{20}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 364.1096, encontrado 364.1082.	
12a y 12b		La purificación de SFC quiral se llevó a cabo como sigue; columna: AS-H 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 40 por ciento IPA y 0.2 por ciento de dietil-amina en CO_2, detección: 354	P1= 5.787 P2= 3.933

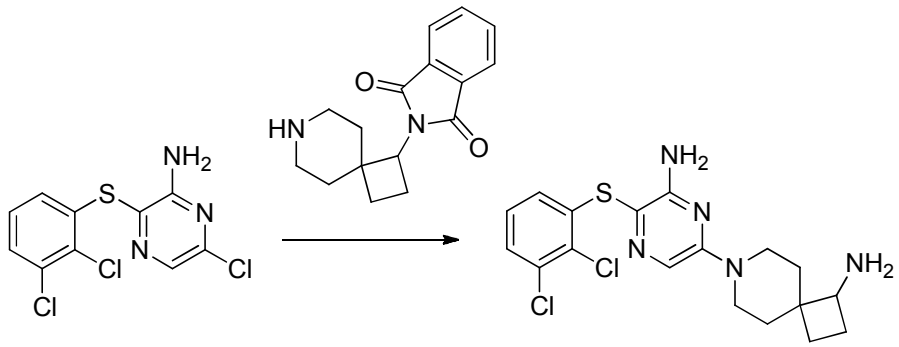
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)=2.0 minutos, R_t (P2)=3.1 minutos. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.23 (s, 1 H), 7.18 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 6.93-7.05 (m, 1 H), 6.50 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 3.70 (d, J = 11.04 Hz, 1 H), 3.24-3.51 (m, 3 H), 2.07-2.24 (m, 1 H), 1.94-2.07 (m, 1 H), 1.89 (d, J = 5.77 Hz, 1 H), 1.54-1.82 (m, 4 H). HRMS calculado para $C_{17}H_{20}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 396.0816, encontrado 396.0798.	

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
13a y 13b		La purificación de SFC quiral se llevó a cabo como sigue; columna: AS-H 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: 45 por ciento IPA y 0.2 por ciento de dietil-amina en CO_2, detección: 354 nanómetros UV para obtener el enantiómero solo R_t (P1)=2.1 minutos, R_t (P2)=3.5 minutos. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.27-7.32 (m, 2 H), 7.11 (t, J = 7.91 Hz, 1 H), 6.60 (dd, J = 8.16, 1.38 Hz, 1 H), 3.64-3.76 (m, 1 H), 3.39-3.57 (m, 4 H), 2.14-2.32 (m, 2 H),	P1= 0.354 P2= 1.510

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		1.88-2.04 (m, 2 H), 1.68-1.88 (m, 2 H). HRMS calculado para $C_{17}H_{20}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 396.0816, encontrado 396.0799.	

Ejemplo 14

7-(6-amino-5-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-amina



Una solución de 6-cloro-3-((2,3-dicloro-fenil)-tio)-pirazin-2-amina (140 miligramos, 0.457 milimoles), y 2-(7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-isoindolina-1,3-diona (sal de HCl, 154 miligramos, 0.502 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1 mililitro) se agitó durante 16 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante e hidrato de hidrazina (29 microlitros,

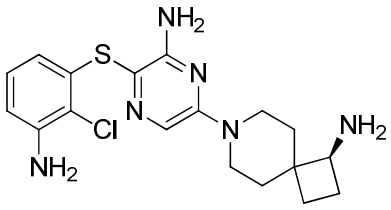
0.602 milimoles) en THF:MeOH (1:1, 1 mililitro) se agitó durante 16 horas a 55°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar el compuesto del título (78 miligramos, 0.502 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.59 (s, 1 H), 7.31 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 7.12 (t, J = 8.03 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 4.37 (d, J = 13.55 Hz, 1 H), 4.26 (d, J = 13.55 Hz, 1 H), 3.24-3.30 (parcialmente traslapado con solvente, m, 1 H), 3.07-3.20 (m, 1 H), 2.92 3.06 (m, 1 H), 2.26-2.39 (m, 1 H), 1.87-2.07 (m, 2 H), 1.57-1.87 (m, 4 H), 1.34-1.42 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 410.0973, encontrada 410.1018; (racémico). La IC_{50} es de 0.056 µM.

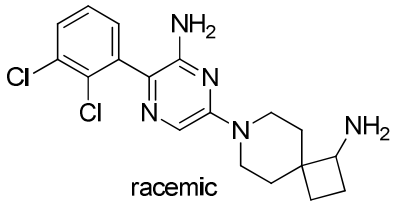
La purificación mediante SFC quiral del compuesto del título anterior se llevó a cabo como sigue; columna: AD-H 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: metanol al 46 por ciento y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 274 nanómetros UV para obtener el único enantiómero R_t (P1) = 4.0 minutos y R_t (P2) = 5.5 minutos. (P1 (enantiómero *S* (determinado mediante rayos-X)); la IC_{50} es de 0.019 µM; (P2 (enantiómero *R*)); la IC_{50} es de 0.414 µM.

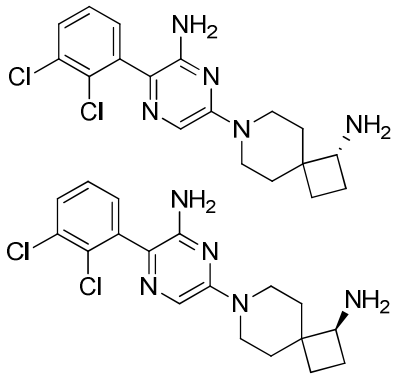
Los siguientes compuestos de la fórmula I, como se identifican en la Tabla 6, se hicieron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando el derivado de

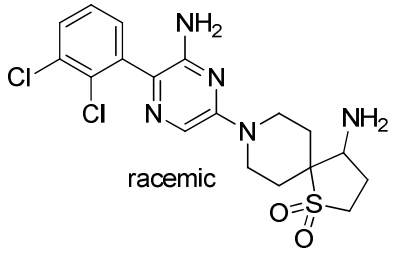
pirazin-2-amina correspondiente y la amina protegida por ftalamida.

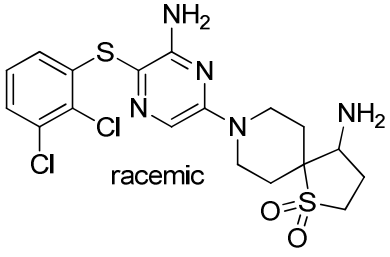
Tabla 6

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
15		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.53 (s, 1H), 6.86 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J = 1.3, 8.1 Hz, 1 H), 6.02 (dd, J = 1.3, 7.8 Hz, 1 H), 4.37-4.10 (m, 2 H), 3.21-2.92 (m, 3 H), 2.32-2.18 (m, 1 H), 1.92-1.62 (m, 5 H), 1.61-1.49 (m, 2H). HRMS calculada para $C_{18}H_{24}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 391.1472, encontrada 391.1486.	0.016

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
16	 racemic	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.61 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.38 (t, J = 7.78 Hz, 1 H), 7.30 (dd, J = 7.53, 1.51 Hz, 1 H), 5.63 (s, 2 H), 4.03-4.19 (m, 1 H), 3.89-4.03 (m, 1 H), 3.34 (s, 2 H), 3.05 (ddd, J = 13.55, 8.53, 5.52 Hz, 1 H), 2.86-2.99 (m, 2 H), 2.00 a 2.14 (m, 1 H), 1.47-1.71 (m, 5 H), 1.28-1.47 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 378.1252, encontrada 378.1217.	0.145

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
17a y 17b		Purificación mediante SFC quiral llevada a cabo como sigue; columna: AD-H 21x250 mm, velocidad de flujo: 75 gramos por minuto, fase móvil: IPA al 45 por ciento y NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: 354 nanómetros UV para obtener un solo enantiómero R_t (P1)=3.4 minutos, R_t (P2)=4.6 minutos. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.61 (dd, J = 8.03, 1.51 Hz, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.38 (t, J = 7.78 Hz, 1 H), 7.30 (dd, J = 7.53, 1.51	P1= 0.120 P2= 0.445

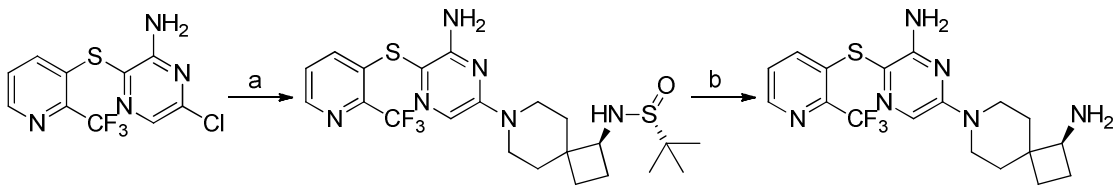
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		Hz, 1 H), 5.63 (s, 2 H), 4.03-4.19 (m, 1 H), 3.89-4.03 (m, 1 H), 3.34 (s, 2 H), 3.05 (ddd, J = 13.55, 8.53, 5.52 Hz, 1 H), 2.86-2.99 (m, 2 H), 2.00 a 2.14 (m, 1 H), 1.47-1.71 (m, 5 H), 1.28-1.47 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 378.1252, encontrada 378.1245.	
18		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.53 (dd, J = 8.08, 1.77 Hz, 1 H) 7.41 (s, 1 H) 7.31 (t, J = 7.83 Hz, 1 H) 7.23 (dd, J = 7.71, 1.64 Hz, 1 H)	3.552

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		4.18 (m, 2 H), 3.73 (t, J = 7.20 Hz, 1 H) 3.44-3.61 (m, 2 H) 3.26-3.44 (m, 2 H) 2.54 (dddd, J = 13.99, 9.32, 6.88, 4.42 Hz, 1 H) 2.03-2.29 (m, 3 H) 1.86-2.01 (m, 1 H) 1.68-1.86 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}Cl_2N_5O_2S$ $(M+H)^+$ 442.0871, encontrada 442.0848.	
19	 racemic	^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.52 (s, 1 H) 7.21 (dd, J = 8.08, 1.52 Hz, 1 H) 7.01 (t, J = 7.96 Hz, 1 H) 6.55 (dd, J = 8.08, 1.26	4.094

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		Hz, 1 H) 4.11-4.29 (m, 2 H) 3.73 (t, J = 7.20 Hz, 1 H) 3.52 (dtd, J = 13.93, 10.97, 10.97, 2.78 Hz, 2 H) 3.34-3.44 (m, 1 H) 3.25-3.34 (m, 1 H) 2.55 (dddd, J = 13.93, 9.38, 6.88, 4.42 Hz, 1 H) 2.04-2.28 (m, 3 H) 1.85-2.00 (m, 1 H) 1.68-1.85 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}Cl_2N_5O_2S_2$ $(M+H)^+$ 474.0592, encontrada 474.0569.	

Ejemplo 20

(*S*)-7-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-amina



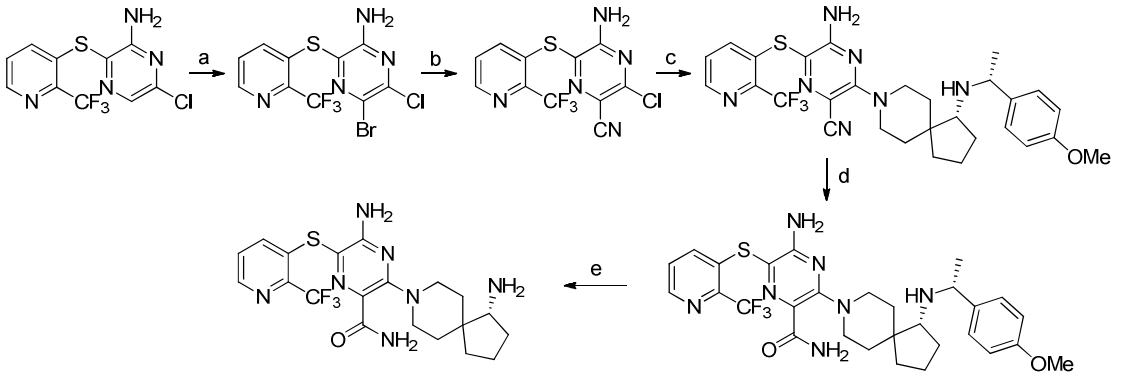
Paso a: Una mezcla de 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (230 miligramos, 0.750 milimoles), y (*R*)-2-metil-*N*-((*S*)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-propan-2-sulfinamida (238 miligramos, 0.975 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (3.7 mililitros), se agitó durante 10 horas a 105°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 5 al 70 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (172 miligramos, 0.334 milimoles), como un sólido blanco. MS *m/z* 515.2 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución de (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (142 miligramos, 0.376 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 414 microlitros, 1.66 milimoles) en dicloro-

metano (DCM) (1.4 mililitros), se agitó durante 20 minutos a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se agregó HCl (1 M en H_2O), y la mezcla acuosa resultante se extrajo con dicloro-metano (DCM). La fase acuosa se basificó con NH_4OH (al 28 por ciento en H_2O) hasta un pH de 12, y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (20 mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (*S*)-7-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-amina (93 miligramos, 0.227 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.40-8.53 (m, 1 H), 7.61-7.69 (m, 1 H), 7.55 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1 H), 7.29 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.19 (s, 2 H), 4.11-4.24 (m, 1 H), 3.99-4.06 (m, 1 H), 3.06-3.20 (m, 2 H), 2.90-3.06 (m, 2 H), 1.50-1.74 (m, 4 H), 1.33-1.49 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{21}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 411.1566, encontrada 411.1579. La IC_{50} es 0.038 μM.

Ejemplo 21

(*S*)-5-amino-3-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida



Paso a: A una solución de 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (1.2 gramos, 2.119 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (30 mililitros), se le agregó, a 0°C, NBS (745 miligramos, 4.19 milimoles) en una porción. La mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 30 minutos a 0°C, y durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución transparente se apagó con agua, y se extrajo con dicloro-metano (DCM). Las capas orgánicas combinadas subsiguientemente se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la 5-bromo-6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (938 miligramos, 2.51 milimoles). MS *m/z* 387.2 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de 5-bromo-6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (750 miligramos, 1.945 milimoles), y cianuro de cobre(I) (348 miligramos, 3.89 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (7 mililitros), se agitó durante 14 horas a 120°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con metanol (50 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para proporcionar el 5-amino-3-cloro-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carbonitrilo (301 miligramos, 0.907 milimoles). MS *m/z*

332.3 $(M+H)^+$.

Paso c: Una mezcla de 5-amino-3-cloro-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carbonitrilo (52 miligramos, 0.157 milimoles), y (*S*)-*N-((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (90 miligramos, 0.314 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.246 mililitros), se agitó durante 1 hora a 135°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para proporcionar el 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carbonitrilo (77 miligramos, 0.132 milimoles). MS *m/z* 584.5 $(M+H)^+$.

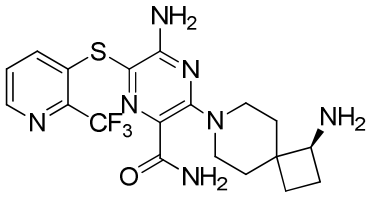
Paso d: Una mezcla de 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carbonitrilo (77 miligramos, 0.132 milimoles), y NaOH (1 M in H_2O, 1.451 mililitros, 1.451 milimoles) en metanol (MeOH) (3.5 mililitros), se agitó en un reactor de microondas durante 35 minutos a 110°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida (79 miligramos, 0.132 milimoles), la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m/z* 602.5 $(M+H)^+$.

Paso e: Una solución de 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-

fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida (79 miligramos, 0.132 milimoles) en ácido trifluoro-acético (TFA) (1.2 mililitros, 15.76 milimoles), se agitó en un reactor de microondas a 100°C hasta que ya no quedó nada de material de partida (3 horas, monitoreado mediante LCMS). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*S*)-5-amino-3-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida (18.8 miligramos, 0.039 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.43 (dd, J = 4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.57 (dd, J = 8.1, 1.3 Hz, 1 H), 7.46 (dd, J = 8.2, 4.5 Hz, 1 H), 3.92-3.88 (m, 2 H), 3.20-3.08 (m, 2 H), 2.77 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 2.04-1.96 (m, 1 H), 1.829-1.82 (m, 1 H), 1.78-1.61 (m, 4 H), 1.53 (ddd, J = 12.3, 9.2, 5.7 Hz, 1 H), 1.43 (ddd, J = 9.8, 4.9, 2.0 Hz, 1 H), 1.39-1.32 (m, 1 H), 1.30-1.23 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{25}F_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 468.1715, encontrada 468.1761; IC_{50} es 0.010 µM.

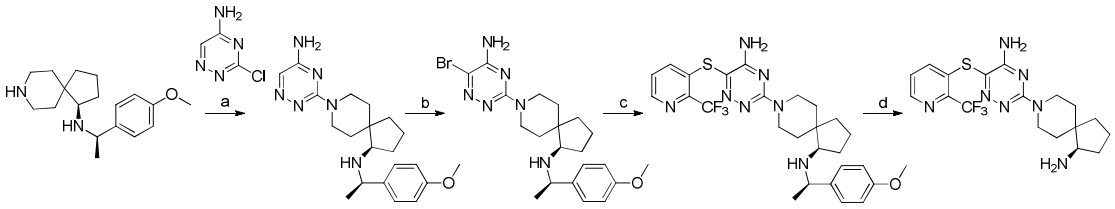
Los siguientes los compuestos de la fórmula I, como se identifican en la Tabla 7, se hicieron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina correspondiente y el método de desprotección de amina.

Tabla 7

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
22		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.33 (dd, J = 1.3, 4.5 Hz, 1 H), 7.50-7.43 (m, 1 H), 7.36 (dd, J = 4.5, 8.1 Hz, 1 H), 3.92-3.81 (m, 1 H), 3.81-3.69 (m, 1 H), 3.11-3.00 (m, 1 H), 3.00 a 2.86 (m, 2 H), 2.18-2.06 (m, 1 H), 1.76-1.52 (m, 5 H), 1.48-1.36 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{23}F3N_7OS$ $(M+H)^+$ 454.1673, encontrada 454.1645	0.053

Ejemplo 23

(*S*)-8-(5-amino-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-1,2,4-triazin-3-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: Una mezcla de 3-cloro-1,2,4-triazin-5-amina (70 miligramos, 0.536 milimoles), (*S*)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (247 miligramos, 0.644 milimoles), y *N*-metil-morfolina (177 microlitros, 1.609 milimoles) en MeCN (1 mililitro), y NMP (0.1 mililitros), se irradió en un reactor de microondas durante 45 minutos a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, el residuo resultante se purificó directamente mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 5 por ciento de MeOH/DCM), para proporcionar la (*S*)-8-(5-amino-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m/z* 383.5 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*S*)-8-(5-amino-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (194 miligramos, 0.507 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (8 mililitros) se le agregó, a 0°C, NBS (97 miligramos, 0.543 milimoles) en una porción. Después de agitar durante 20 minutos a 0°C, la solución

transparente se apagó con unas cuantas gotas de Na_2CO_3 acuoso y se extrajo con dicloro-metano (DCM). La capa orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la (*S*)-8-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (77.9 miligramos, 0.169 milimoles). MS *m/z* 463.4 $(M+H)^+$.

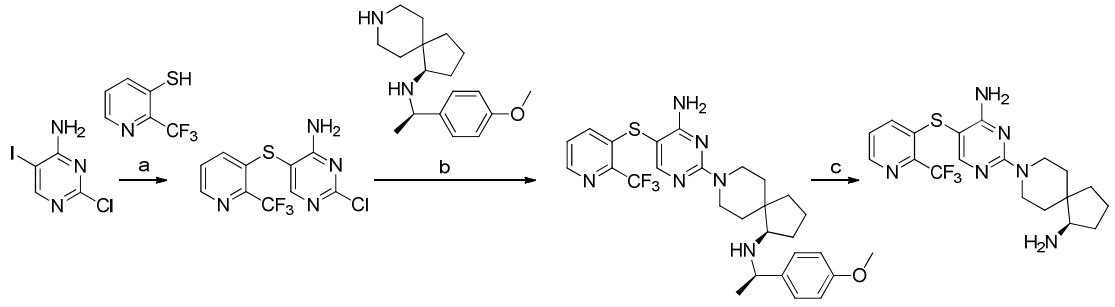
Paso c: Una mezcla de la (*S*)-8-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (54.1 miligramos, 0.117 milimoles), 2-(trifluoro-metil)-piridin-3-tiol (21 miligramos, 0.117 milimoles), XantPhos (7.46 miligramos, 0.013 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (5.37 miligramos, 0.0058 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.041 mililitros, 0.234 milimoles) en dioxano (1 mililitro), se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con EtOAc (10 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (65 miligramos, 0.116 milimoles). MS *m/z* 560.5 $(M+H)^+$.

Paso d: Una solución de la (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-1,2,4-triazin-3-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (65 miligramos, 0.116 milimoles)

en ácido trifluoro-acético (TFA) (1.253 mililitros, 16.26 milimoles), se agitó a 100°C hasta que ya no quedó nada de material de partida (1.5 horas, monitoreado mediante LC/MS), los volátiles se removieron bajo presión reducida, el residuo resultante se diluyó con agua, y se extrajo con Et_2O (10 mililitros, 3 veces). La capa acuosa se basificó a un pH de 12 utilizando NH_4OH (al 28 por ciento en agua), y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (10 mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-1,2,4-triazin-3-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (14.5 miligramos, 0.032 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.50-8.45 (m, 1 H), 7.60-7.54 (m, 1 H), 7.53-7.46 (m, 1 H), 4.64-4.50 (m, 2 H), 3.22-3.09 (m, 2 H), 2.88 (t, J = 7.3 Hz, 1 H), 2.11-2.00 (m, 1 H), 1.94-1.86 (m, 1 H), 1.84-1.74 (m, 1 H), 1.74-1.63 (m, 3 H), 1.59-1.46 (m, 2 H), 1.45-1.39 (m, 1 H), 1.39-1.31 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}F_3N_7S$ $(M+H)^+$ 426.1688, encontrada 426.1667. La IC_{50} es de 0.290 μM.

Ejemplo 24

(*S*)-8-(4-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: Una mezcla de 2-(trifluoro-metil)-piridin-3-tiol (150 miligramos, 0.837 milimoles), 2-cloro-5-yodo-pirimidin-4-amina (267 miligramos, 1.047 milimoles), XantPhos (53.3 miligramos, 0.092 milimoles), $Pd_2(dba)_3$ (38.3 miligramos, 0.042 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.292 mililitros, 1.674 milimoles) en dioxano (1 mililitro), se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con EtOAc (10 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la 2-cloro-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-4-amina (141 miligramos, 0.460 milimoles). MS *m/z* 307.4 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de 2-cloro-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-4-amina (70 miligramos, 0.228 milimoles), y (*S*)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (105 miligramos, 0.274 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.359 mililitros), se agitó en un reactor de microondas durante 1.5 horas a 135°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (*S*)-8-(4-

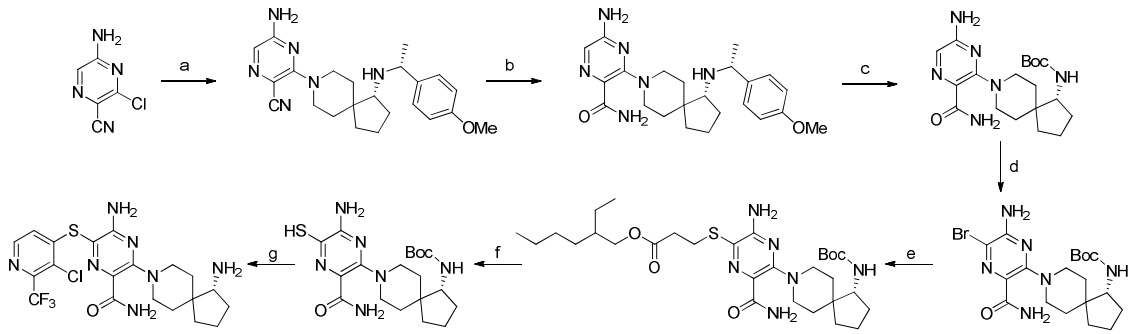
amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-2-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (128 miligramos, 0.228 milimoles). MS *m/z* 559.5 $(M+H)^+$.

Paso c: Una solución de (*S*)-8-(4-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-2-il)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (128 miligramos, 0.229 milimoles) en ácido trifluoro-acético (TFA) (2.471 mililitros, 32.1 milimoles), se agitó a 100°C hasta que ya no quedó nada de material de partida (1.5 horas, monitoreado mediante LCMS), los volátiles se removieron bajo presión reducida, el residuo resultante se diluyó con agua, y se extrajo entonces con Et_2O (10 mililitros, 3 veces). La capa acuosa se basificó a un pH de 12 utilizando NH_4OH (al 28 por ciento en agua), y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (10 mililitros, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*S*)-8-(4-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirimidin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (32 miligramos, 0.072 milimoles). ^1H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.41-8.35 (m, 1 H), 8.00 (s, 1 H), 7.47-7.43 (m, 2 H), 4.66-4.45 (m, 2 H), 3.18-3.06 (m, 2 H), 2.81 (t, J = 7.3 Hz, 1 H), 2.09-1.97 (m, 1 H), 1.94-1.86 (m, 1 H), 1.81-1.72 (m, 1 H), 1.69-1.62 (m, 2 H), 1.59-1.53 (m, 2 H), 1.49-1.44 (m, 1 H), 1.40-1.35 (m, 1 H), 1.33-1.25 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{24}F_3N_6S$ $(M+H)^+$

425.1735, encontrada 425.1741; IC_{50} es 2.78 µM.

Ejemplo 25

(*R*)-5-amino-3-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((3-cloro-2-(trifluoro-metil)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida



Paso a: Una solución de 5-amino-3-cloro-pirazin-2-carbonitrilo (1.55 gramos, 10.0 milimoles), y (*R*)-*N*-*((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (2.88 gramos, 10.0 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (10 microlitros), y NMP (5 mililitros), se agitó durante 16 horas a 110°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 5 por ciento de MeOH/DCM), para dar el 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-carbonitrilo (2.74 gramos, 6.74 milimoles). MS

m/z 407.3 $(M+H)^+$.

Paso b: (*Nota: Esta reacción se ejecutó en 4 lotes de 500 miligramos cada uno*). Una solución de 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-carbonitrilo (500 miligramos, 1.23 milimoles) en metanol (MeOH) (8 mililitros), y NaOH (2.5 M en H_2O, 5 mililitros, 12.3 milimoles), se agitó en un reactor de microondas durante 90 minutos a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla resultante se purificó mediante HPLC (gradiente del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo/agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-carboxamida (160 miligramos/reacción, 640 miligramos en total, 1.51 milimoles). MS *m/z* 425.3 $(M+H)^+$.

Paso c: Una solución de 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-carboxamida (615 miligramos, 1.45 milimoles) en ácido trifluoro-acético (TFA) (11 mililitros) se agitó durante 1 hora a 100°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante, di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.2 mililitros, 6.89 milimoles), y Boc_2O (330 miligramos, 1.516 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (15 mililitros) se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 1 al 10 por ciento de MeOH/DCM), para dar el (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-

carbamato de terbutilo (538 miligramos, 1.378 milimoles). MS *m/z* 391.0 $(M+H)^+$.

Paso d: Una solución de (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (538 miligramos, 1.378 milimoles), y NBS (270 miligramos, 1.516 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (5 mililitros), se agitó durante 20 minutos a 0°C. La mezcla de reacción se apagó con metanol (2 mililitros), y se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente. La mezcla resultante se vertió en un embudo de separación que contenía $NaHCO_3$ acuoso. y se extrajo con dicloro-metano (DCM). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar el (*R*)-(8-(6-amino-5-bromo-3-carbamoil-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (627 miligramos, 1.336 milimoles). MS *m/z* 471.2 $(M+H)^+$.

Paso e: A una solución de (*R*)-(8-(6-amino-5-bromo-3-carbamoil-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (627 miligramos, 1.336 milimoles), XantPhos (77 miligramos, 0.134 milimoles), y $Pd_2(dba)_3$ (61.2 miligramos, 0.067 milimoles) en dioxano (3 mililitros), se le agregó (a temperatura ambiente, y bajo N_2) 3-mercapto-propanoato de 2-etil-hexilo (334 microlitros, 1.469 milimoles), seguido por la adición de di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (467 microlitros, 2.67 milimoles). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1 hora a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se

filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con EtOAc (5 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de MeOH/DCM), para dar el 3-((3-amino-5-((R)-1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-carbamoil-pirazin-2-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (574 miligramos, 0.946 milimoles). MS *m/z* 607.4 $(M+H)^+$.

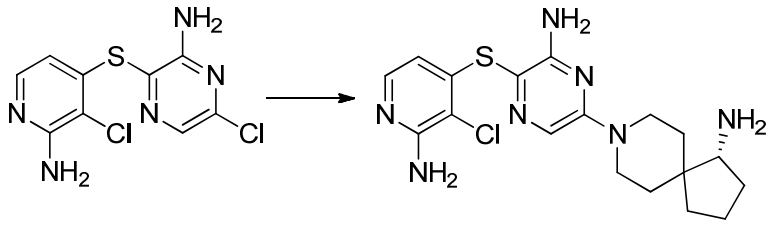
Paso f: A una solución de 3-((3-amino-5-((R)-1-((terbutoxi-carbonil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-carbamoil-pirazin-2-il)-tio)-propanoato de 2-etil-hexilo (574 miligramos, 0.946 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (3 mililitros), se le agregó (a -78°C y bajo N_2) terbutóxido de potasio (1 M en tetrahidrofurano (THF), 2.84 mililitros, 2.84 milimoles). Después de agitar vigorosamente a -78°C durante 10 minutos, la reacción se apagó con K_2CO_3 acuoso (2 M, 500 microlitros), y los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo/agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar el (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-mercaptopirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (280 miligramos, 0.663 milimoles). MS *m/z* 423.4 $(M+H)^+$.

Paso g: A una solución de (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-mercaptopirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (88 miligramos, 0.208 milimoles), 3-cloro-4-yodo-2-(trifluoro-metil)-piridina (80 miligramos, 0.260 milimoles), XantPhos (12.1 miligramos, 0.021 milimoles), y $Pd_2(dba)_3$ (9.6 miligramos, 0.01

milimoles) en dioxano (0.5 mililitros), se le agregó (a temperatura ambiente, y bajo N_2) di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (110 microlitros, 0.625 milimoles). La solución resultante se agitó en un reactor de microondas durante 1 hora a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con EtOAc (5 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron y se secaron al vacío. Una solución del residuo resultante en dicloro-metano (DCM) (1 mililitro), y ácido trifluoro-acético (TFA) (400 microlitros) se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*R*)-5-amino-3-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-6-((3-cloro-2-(trifluoro-metil)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-carboxamida (60 miligramos, 0.120 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.18 (d, J = 5.05 Hz, 1 H). 6.85 (d, J = 5.31 Hz, 1 H). 3.87 (t, J = 13.89 Hz, 2 H). 2.98-3.14 (m, 2 H), 2.72 (t, J = 7.33 Hz, 1 H). 1.86-2.02 (m, 1 H). 1.73-1.81 (m, 1 H). 1.43-1.72 (m, 5 H). 1.17-1.41 (m, 3 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -67.22 (s, 1 F). HRMS calculada para $C_{20}H_{24}ClF_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 502.1404, encontrada 502.1398. La IC_{50} es 0.058 μM.

Ejemplo 26

(*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina

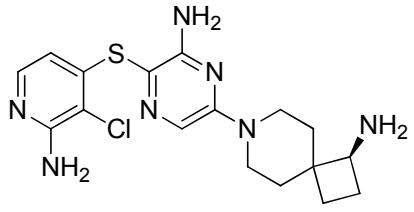


Una mezcla de 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (67 miligramos, 0.233 milimoles), y (*R*)-2-metil-N-((R)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (120 miligramos, 0.465 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2 mililitros), se agitó durante 5 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante en dioxano (5 mililitros), y HCl (4 M en dioxano, 1 mililitro), se agitó durante 1 hora a 40°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM). El residuo resultante se purificó adicionalmente mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (Princeton DEAP 20 x 150 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: del 20 al 40 por ciento de metanol en CO_2 dentro de 5.7 minutos, recolección desencadenada por la masa, temperatura del horno de 40°C, retro-presión de 120 bar), para dar la (*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (23 miligramos, 0.057 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.50-7.64 (m, 2 H), 5.91 (d, J = 5.77 Hz, 1 H), 4.26 (t, J = 13.18 Hz, 2 H), 3.03-3.20 (m, 2 H), 2.79 (t, J = 7.53 Hz, 1

H), 1.95-2.11 (m, 1 H), 1.83-1.95 (m, 1 H), 1.52-1.82 (m, 5 H), 1.37-1.52 (m, 2 H), 1.32 (dd, J = 13.30, 2.01 Hz, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{25}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 406.1581, encontrada 406.1576. La IC_{50} es de 0.014 µM.

Los siguientes compuestos se sintetizaron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina protegida por amina correspondiente.

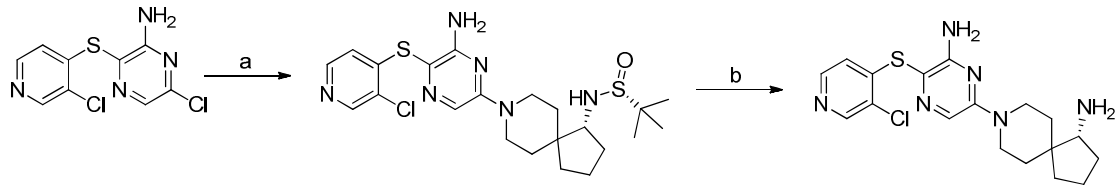
Tabla 8

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (µM)
27		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.50-7.64 (m, 2 H), 5.90 (d, J = 5.52 Hz, 1 H), 4.30 (d, J = 13.55 Hz, 1 H), 4.19 (d, J = 13.55 Hz, 1 H), 2.94-3.19 (m, 3 H), 2.15-2.29 (m, 1 H), 1.60-1.89 (m, 5 H), 1.47-1.60 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{23}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 392.1424,	0.042

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		encontrada 392.1434.	

Ejemplo 28

(*R*)-8-(6-amino-5-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



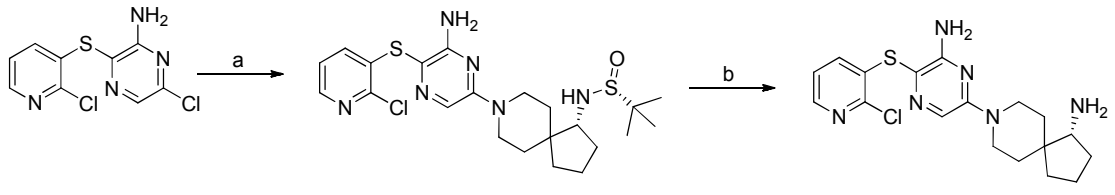
Paso a: A una suspensión de 6-cloro-3-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (53 miligramos, 0.194 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (65 mili-gramos, 0.252 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano; EtOAc que contenía MeOH al 10 por ciento, heptano que contenía Et_3N al 2 por ciento), para proporcionar la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (40 mili-gramos, 0.081 milimoles), como un sólido grisáceo. MS *m/z* 495.0 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-

cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (40 miligramos, 0.081 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (0.8 mililitros), se le agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 101 microlitros, 0.404 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. Se agregó una solución acuosa de HCl (2 M, 2 mililitros), y la mezcla resultante se extrajo con dicloro-metano (DCM) (2 veces). La mezcla acuosa se basificó con hidróxido de amonio (al 28 por ciento en agua) hasta un pH = 12, y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (3 veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar la (*R*)-8-(6-amino-5-((3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (24 miligramos, 0.061 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.49 (s, 1 H), 8.25 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 6.56 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 6.24 (s, 2 H), 4.07-4.26 (m, 2 H), 2.98-3.13 (m, 2 H), 2.70 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 1.11-1.94 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{24}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 391.1472, encontrada 391.1480. La IC_{50} es de 0.023 μM.

Ejemplo 29

(*R*)-8-(6-amino-5-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



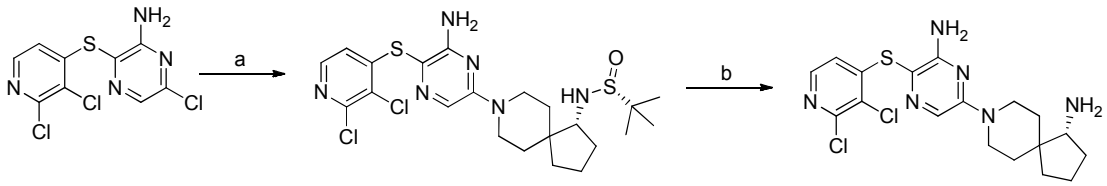
Paso a: A una suspensión de 6-cloro-3-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (85 miligramos, 0.311 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.6 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (105 mili-gramos, 0.405 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano; EtOAc que contenía MeOH al 10 por ciento, heptano que contenía Et_3N al 2 por ciento), para proporcionar la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (40 mili-gramos, 0.081 milimoles), como un sólido grisáceo. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.15 (dd, J = 4.5, 1.8 Hz, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.01-7.18 (m, 2 H), 4.87 (br. s, 2 H), 4.24 (s, 2 H), 3.29-3.45 (m, 1 H), 3.20 (d, J = 5.8 Hz, 1 H) 2.98-3.13 (m, 2 H), 1.98-2.21 (m, 1 H), 1.36-1.94 (m, 9 H), 1.22 (s, 9 H). MS *m/z* 495.0 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (66 miligramos, 0.133 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se le agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 167 microlitros, 0.667 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. Se agregó una solución acuosa de HCl (2 M, 2 mililitros), y la mezcla resultante se extrajo con dicloro-metano (DCM) (2 veces). La mezcla acuosa se basificó con hidróxido de amonio (al 28 por ciento en agua) hasta un pH = 12,

y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (3 veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar la (*R*)-8-(6-amino-5-((2-cloro-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (24 miligramos, 0.062 milimoles), como un sólido bronceado. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.01 (dd, J = 4.8, 1.8 Hz, 1 H), 7.43-7.52 (m, 1 H), 7.12 (dd, J = 7.9, 4.6 Hz, 1 H), 7.00 (dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 1 H), 4.11-4.26 (m, 2 H), 2.96-3.10 (m, 2 H), 2.67-2.81 (m, 1 H), 1.06-2.05 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{24}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 391.1472, encontrada 391.1470. La IC_{50} es 0.015 µM.

Ejemplo 30

(*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



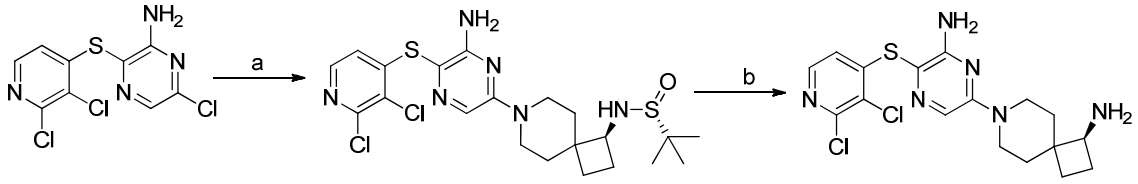
Paso a: A una suspensión de 6-cloro-3-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (34 miligramos, 0.111 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.55 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (37 miligramos, 0.144 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por

ciento de EtOAc/heptano; EtOAc que contenía MeOH al 10 por ciento, heptano que contenía Et_3N al 2 por ciento), para proporcionar la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (33 miligramos, 0.062 milimoles), como un sólido grisáceo. ^{1}H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8.02 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 6.60 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 4.82 (s, 2 H), 4.21-4.34 (m, 2 H), 3.34-3.42 (m, 1 H), 3.20 (d, J = 5.8 Hz, 1 H), 2.99-3.15 (m, 2 H), 2.08-2.21 (m, 1 H), 1.26-1.97 (m, 9 H), 1.23 (s, 9 H). MS *m/z* 529.1 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (20 miligramos, 0.038 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (0.38 mililitros), se le agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 47 microlitros, 0.189 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió en metanol (MeOH). El producto crudo se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para proporcionar la (*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (7 miligramos, 0.016 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.91-8.04 (m, 1 H), 7.52-7.65 (m, 1 H), 6.61 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 4.29 (t, J = 14.2 Hz, 2 H), 3.06-3.22 (m, 2 H), 2.88 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 1.21-2.17 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}Cl_2N_6S$ $(M+H)^+$ 425.1082, encontrada 425.1095. La IC_{50} es 0.003 µM.

Ejemplo 31

(*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-amina



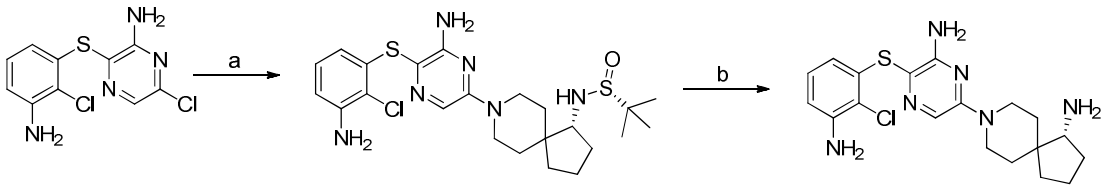
Paso a: A una suspensión de 6-cloro-3-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (54 miligramos, 0.176 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.8 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (86 miligramos, 0.351 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano; EtOAc que contenía MeOH al 10 por ciento, heptano que contenía Et_3N al 2 por ciento), para proporcionar la (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (52 miligramos, 0.102 milimoles), como un sólido grisáceo. MS *m/z* 514.9 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (20 miligramos, 0.039 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (0.38 mililitros), se le agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 47 microlitros, 0.189 milimoles), y la mezcla

resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió en metanol (MeOH). El producto crudo se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para proporcionar la (*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-7-aza-espiro-[3.5]-nonan-1-amina (7 miligramos, 0.017 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.89 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 6.51 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 3.94-4.31 (m, 2 H), 2.76-3.11 (m, 3 H), 2.06-2.24 (m, 1 H), 1.36-1.82 (m, 7 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{21}Cl_2N_6S$ $(M+H)^+$ 411.0925, encontrada 411.0938. La IC_{50} es 0.028 µM.

Ejemplo 32

(*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-dicloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



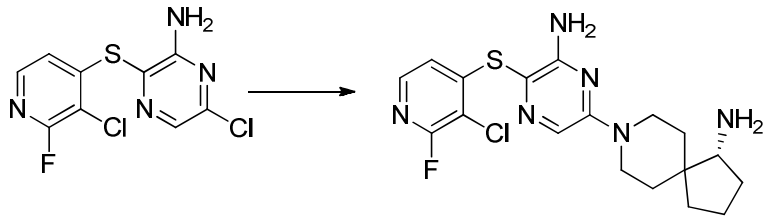
Paso a: A una suspensión de 3-((3-amino-2-cloro-fenil)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (60 miligramos, 0.209 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.5 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-((*R*)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (70 miligramos, 0.272 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por

ciento de EtOAc/heptano; heptano que contenía Et_3N al 2 por ciento), para proporcionar la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-amino-2-cloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (31 miligramos, 0.061 milimoles), como un sólido grisáceo. MS *m/z* 509.0 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-amino-2-cloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (31 miligramos, 0.061 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (0.6 mililitros), se le agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 76 microlitros, 0.304 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. Se agregó una solución acuosa de HCl (2 M, 2 mililitros), y la mezcla resultante se extrajo con dicloro-metano (DCM) (2 veces). La mezcla acuosa se basificó con hidróxido de amonio (al 28 por ciento en agua) hasta un pH = 12, y se extrajo con dicloro-metano (DCM) (3 veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar la (*R*)-8-(6-amino-5-((3-amino-2-cloro-fenil)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (18 miligramos, 0.042 milimoles), como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.40 (s, 1 H), 6.73 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.50 (dd, J = 8.1, 1.3 Hz, 1 H), 5.90 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 1 H), 4.02-4.18 (m, 2 H), 3.21 (dt, J = 3.2, 1.5 Hz, 1 H), 2.98 (d, J = 11.4 Hz, 2 H), 2.67 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 1.04-2.02 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{26}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 405.1628, encontrada 405.1639. La IC_{50} es 0.011 μM.

Ejemplo 33

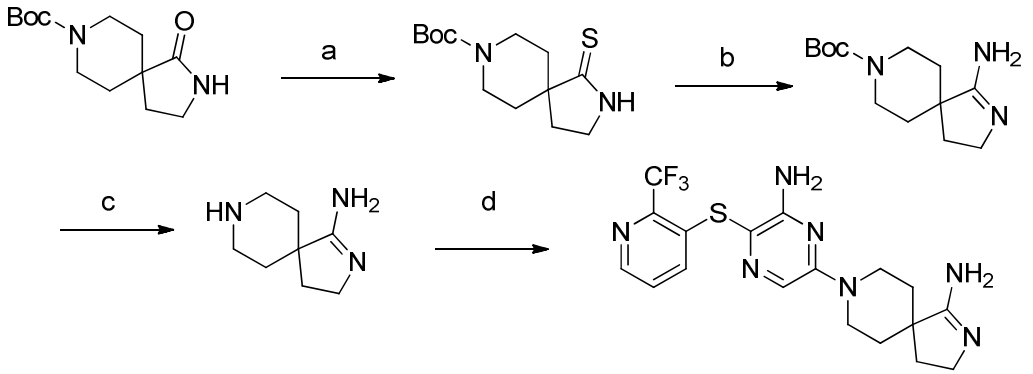
(*R*)-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



A una suspensión de 6-cloro-3-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (40 miligramos, 0.137 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.7 mililitros), se le agregó (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (71 miligramos, 0.0275 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 90°C durante 10 horas y entonces se concentró. El producto crudo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (0.7 mililitros), se agregó una solución de HCl (4 M en dioxano, 34 microlitros, 0.137 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a 40°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, y el producto crudo se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), para proporcionar la (*R*)-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (sal de ácido trifluoro-acético (TFA): 17 miligramos, 0.042 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.94 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.79 (br. s., 3 H), 7.69 (br. s., 1 H), 6.51 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 6.34 (br. s., 2 H), 4.12-4.32 (m, 2 H), 2.99-3.24 (m,

3 H), 2.00 a 2.12 (m, 1 H), 1.30-1.90 (m, 9 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}ClFN_6S$ $(M+H)^+$ 409.1377, encontrada 409.1385. La IC_{50} es 0.005 µM.

Ejemplo 34



Paso a: A una solución a temperatura ambiente de 2-oxo-1,8-diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (300 miligramos, 1.180 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (3 mililitros), se le agregó pentasulfuro de fósforo (110 miligramos, 0.495 milimoles), seguido por hexametil-disiloxano (2.256 mililitros, 10.62 milimoles). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente, y entonces se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 80 por ciento de EtOAc/heptano) dando el 1-tioxo-2,8-diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (0.290 gramos, 1.07 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.39 (s, 1

H), 3.66 (dt, J = 13.6, 4.9 Hz, 2 H), 3.09 (s, 2 H), 2.78 (t, J = 7.8 Hz, 2 H), 1.95 (t, J = 7.8 Hz, 2 H), 1.57 (dd, J = 6.6, 4.8 Hz, 4 H), 1.39 (s, 9 H). MS *m/z* 271 $(M+H)^+$.

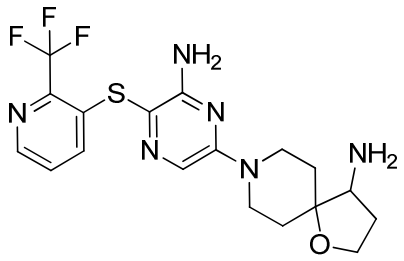
Paso b: A una solución de 1-tioxo-2,8-diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato (100 miligramos, 0.370 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (3 mililitros), se le agregó por goteo yodo-metano (0.231 mililitros, 3.70 milimoles). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A través de todo el transcurso de la reacción, la mezcla lentamente llegó a ser de un color más amarillo, y dio como resultado un precipitado amarillo claro después de agitar durante el tiempo de reacción asignado. La mezcla de reacción se concentró y se secó al vacío, dando un sólido amarillo. El sólido amarillo se absorbió en metanol (MeOH) (2 mililitros), y se trata con 7 M amoníaco en metanol (MeOH) (3 mililitros), y entonces se calentó en un tubo sellado a 100°C durante 8 horas. La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se concentró bajo presión reducida, dando un sólido que se sonicó con acetonitrilo y se filtró. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 30 por ciento de MeOH/DCM) dando el 1-amino-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-ene-8-carboxilato de terbutilo (87 miligramos, 0.343 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.38 (s, 1 H), 8.81 (d, J = 25.2 Hz, 2 H), 3.98 (s, 2 H), 3.55 (t, J = 7.0 Hz, 2 H), 2.82 (s, 2 H), 2.12 (t, J = 7.1 Hz, 2 H), 1.74 (td, J = 12.9, 4.7 Hz, 2 H), 1.57 (d, J = 12.7 Hz, 2H), 1.41 (s, 9 H). MS *m/z* 254 $(M+H)^+$.

Paso c: A una solución del 1-amino-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-ene-8-carboxilato de terbutilo (86 miligramos, 0.339 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (3 mililitros), se le agregó HCl en dioxano (4 M, 0.500 mililitros, 2.0 milimoles), a temperatura ambiente, y la reacción se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se trituró a partir de acetonitrilo y se filtró, dando la 2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-en-1-amina (57.7 miligramos, 0.254 milimoles), como un sólido bronceado. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.64 (s, 1 H), 9.39-9.23 (m, 1 H), 9.15 (s, 1 H), 9.07 (s, 1 H), 8.70 (d, J = 12.5 Hz, 1 H), 3.54 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 3.32 (d, J = 13.3 Hz, 2 H), 3.05-2.88 (m, 2 H), 2.18 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 2.01 (td, J = 13.7, 4.3 Hz, 2 H), 1.80 (d, J = 13.8 Hz, 2 H). MS *m/z* 154 $(M+H)^+$.

Paso d: A una suspensión de 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (250 miligramos, 0.815 milimoles), y 2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-en-1-amina (210 miligramos, 1.371 milimoles) en *N*-metil-2-pirrolidinona (4 mililitros), se le agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.4 mililitros, 8.02 milimoles), y la reacción se calentó a 140°C durante 16 horas. La mezcla oscura resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se dividieron y la capa orgánica se desechó. La capa acuosa se extrajo con una mezcla al 20 por ciento de isopropanol/cloroformo (30 mililitros, 2 veces), los materiales orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se

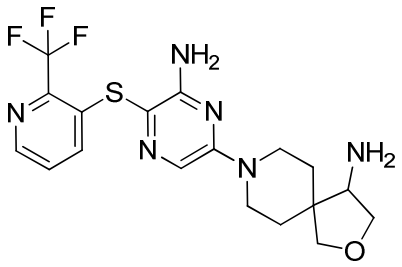
concentraron. El residuo crudo se purificó utilizando HPLC de preparación (elución en gradiente, del 5 al 40 por ciento de acetonitrilo (ACN) en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), y la mitad de las fracciones reservadas se liofilizaron, dando la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-en-1-amina (sal de ácido trifluoro-acético (TFA): 61.4 miligramos, 0.082 milimoles). Las fracciones restantes se combinaron y se neutralizaron mediante agitación durante 10 minutos vigorosamente con $NaHCO_3$ saturado al 50 por ciento. La solución resultante se extrajo con una mezcla al 20 por ciento de isopropanol/cloroformo (30 mililitros, 3 veces), los materiales orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron, dando la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-1-en-1-amina (22 miligramos, 0.052 milimoles) como la base libre. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.46 (d, J = 4.4 Hz, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 7.55 (dd, J = 8.2, 4.5 Hz, 1 H), 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 6.19 (s, 2 H), 5.74 (s, 2 H), 4.40 (d, J = 13.4 Hz, 2 H), 3.43 - 3.34 (m, 2 H), 2.90 (t, J = 12.2 Hz, 2 H), 1.97-1.89 (m, 2 H), 1.83 (td, J = 13.0, 4.1 Hz, 2 H), 1.36 (d, J = 12.9 Hz, 2 H). MS *m/z* 424.1541 $(M+H)^+$. La IC_{50} es de 0.032 μM

El siguiente compuesto se hizo utilizando la amina anterior y se acopló empleando los procedimientos convencionales descritos en la presente.

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
35		^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 8.35 (dd, J = 4.5, 1.5 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 7.42 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 7.24–7.15 (m, 1 H), 4.77 (s, 2 H), 4.13 (m, 2 H), 3.90 (m, 1 H), 3.78 (m, 1 H), 3.28–3.17 (m, 2 H), 3.06 (t, J = 6.9 Hz, 1 H), 2.27 (2, 1 H), 1.74–1.63 (m, 1 H), 1.63–1.54 (m, 3 H), 1.53–1.46 (m, 1 H), 1.21 (br. s, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 427.1528, encontrada 427.1526.	0.232

Ejemplo 36

8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina racémica

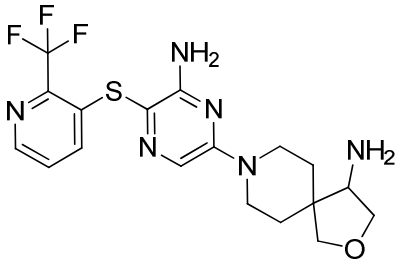


La 2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona racémica (40 miligramos, 0.072 milimoles) se disolvió en etanol (1 mililitro) en un frasco para microondas cónico de 5 mililitros, se le agregó hidrato de hidrazina (0.070 mililitros, 1.44 milimoles), se tapó y se calentó sobre un baño con perlas de aluminio a 90°C durante 2 horas. La suspensión se filtró al vacío a través de una membrana de PTFE de 0.45 micras, y se lavó con etanol. La purificación mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), entonces se diluyó con EtOAc, y se lavó con bicarbonato acuoso saturado, y luego con salmuera. Se concentró, se diluyó con 1 mililitro de dicloro-metano (DCM) y, se le agregó HCl (100 microlitros, 4 M en dioxano) para obtener un precipitado. Se concentró para obtener la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina (sal de HCl: 1 miligramo, 0.002 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d_4) δ

8.43–8.39 (m, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 7.46–7.39 (m, 2 H), 4.35–4.14 (m, 2 H), 3.98 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 3.90 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 3.58 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 3.29–3.12 (m, 3 H), 1.76 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 427.1528, encontrada 427.1537. La IC_{50} es de 0.07 µM.

Ejemplo 37

(*R*) y (*S*)-8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina

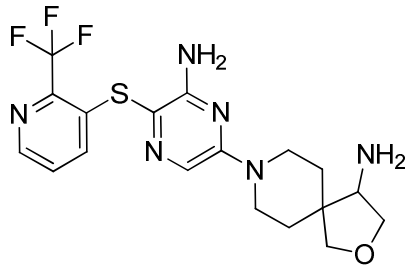


Se disolvió el único enantiómero P1, 2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona (49 miligramos, 0.088 milimoles) en etanol (1 mililitro), en un frasco para microondas cónico de 5 mililitros, se agregó hidrato de hidrazina (0.080 mililitros, 1.65 milimoles), se tapó y se calentó sobre un baño con perlas de aluminio a 90°C durante 2 horas. La suspensión se filtró al vacío a través de una membrana de PTFE de 045 micras, y se lavó con etanol. La purificación mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM) dio como resultado el aislamiento de la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-

amina (13 miligramos, 0.029 milimoles). HPLC analítica quiral: LC-3 4.6 x 100 milímetros, 5 micras, fase móvil: MeOH al 45 por ciento con amoníaco 10 mM, 5 mililitros / minuto, pico 1 (P1) del único enantiómero, R_t: 0.88 minutos, >99 por ciento del único enantiómero. ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d_4) δ 8.39 (dd, J = 4.3, 1.6 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.41 (m, 2 H), 4.21–4.07 (m, 3 H), 3.86 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 3.79 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 3.51 (dd, J = 9.0, 5.2 Hz, 1 H), 3.24 (m, 2 H), 3.15 (m, 1 H), 1.73 (m, 2 H), 1.59 (m, 1.8 Hz, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ (M+H)+ 427.1528, encontrada 427.1542. La IC_{50} es de 0.025 µM.

Ejemplo 38

(*R*) y (*S*)- 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina

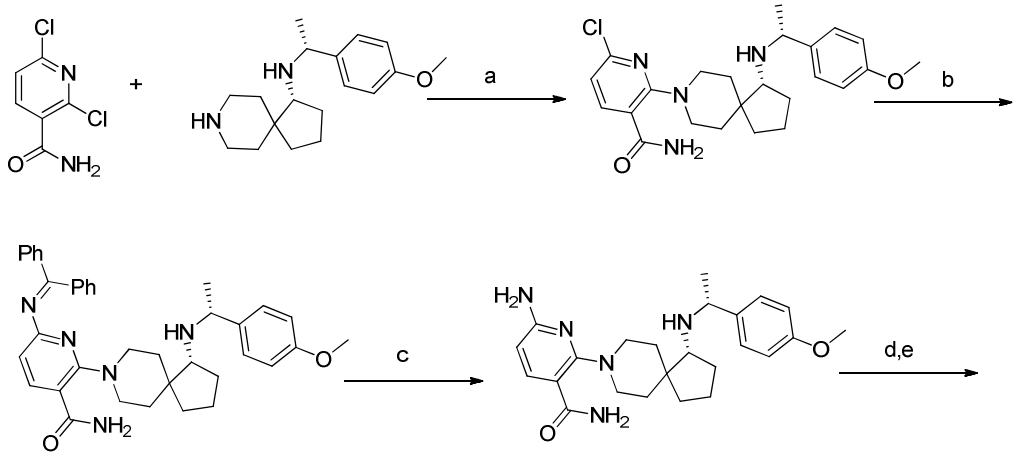


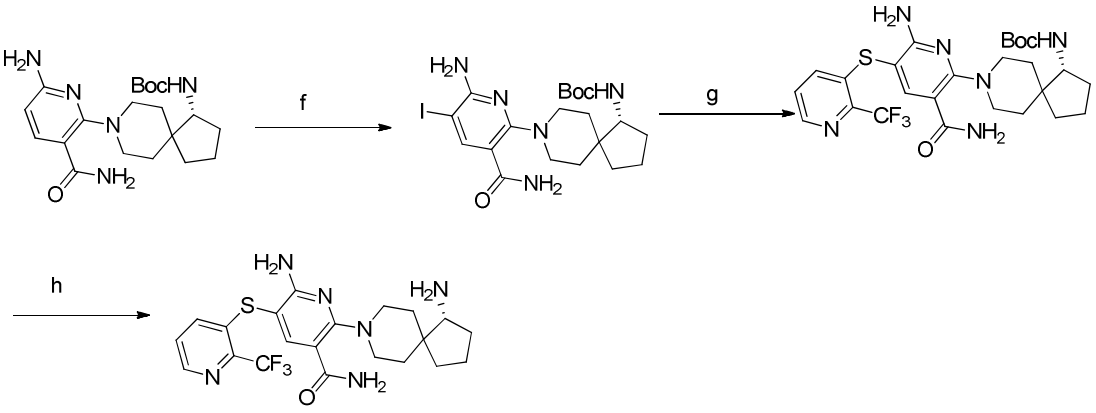
Se disolvió el único enantiómero P2, 2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-il)-isoindolina-1,3-diona (42 miligramos, 0.075 milimoles) en etanol (1 mililitro) en un frasco para microondas cónico de 5 mililitros, se agregó hidrato de hidrazina (0.080 mililitros, 1.65 milimoles), se tapó y se calentó sobre un baño con perlas de aluminio a 90°C durante 2 horas. La suspensión se filtró al vacío a

través de una membrana de PTFE de 045 micras y se lavó con etanol. La purificación mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM) dio como resultado el aislamiento de la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina (13 miligramos, 0.029 milimoles). HPLC analítica quiral: LC-3 4.6 x 100 milímetros, 5 micras, fase móvil: MeOH al 45 por ciento con amoníaco 10 mM, 5 mililitros / minuto, pico 2 (P2) del único enantiómero, R_t: 1.33 minutos, >99 por ciento del único enantiómero. ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-*d*4) δ 8.39 (dd, J = 4.3, 1.6 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.41 (m, 2 H), 4.21–4.07 (m, 3 H), 3.86 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.79 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 3.50 (dd, J = 9.0, 5.2 Hz, 1 H), 3.24 (m, 2 H), 3.15 (m, 1 H), 1.80–1.67 (m, 2 H), 1.64–1.50 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 427.1528, encontrada 427.1536. La IC_{50} es 0.983μM.

Ejemplo 39

(R)-6-amino-2-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-nicotinamida





Paso a: A una solución de 2,6-dicloro-piridin-3-carboxamida (0.728 gramos, 3.81 milimoles) en 1-metil-pirrolidinona (7 mililitros), se le agregaron *N*-metil-morfolina (1.14 mililitros, 10.40 milimoles), y *(R)-N-((R)*-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (1 gramo, 3.47 milimoles). La mezcla resultante se calentó a 100°C bajo condiciones de reflujo durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se trató con bicarbonato de sodio concentrado, y se filtró. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El aceite color rojo oscuro resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano que contenía trietil-amina al 0.25 por ciento), para proporcionar la 6-cloro-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (0.998 gramos, 2.25 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d_4) δ 7.81 (d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.26 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 6.86 (m, 3 H), 3.82 (m, 1 H), 3.77 (s, 3 H), 3.75–3.63 (m, 2

H), 3.03 (m, 2 H), 2.59 (m, 1 H), 2.01–1.92 (m, 1 H), 1.88–1.52 (m, 5 H), 1.51–1.36 (m, 3 H), 1.32 (d, J = 6.5 Hz, 3 H), 1.25 (m, 2 H). MS *m/z* 442.9 $(M+H)^+$.

Paso b: A una solución de 6-cloro-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (242 miligramos, 0.546 milimoles), en tolueno (11 mililitros), se le agregaron $Pd_2(dba)_3$ (97 miligramos, 0.169 milimoles), y (oxibis-(2,1-fenileno))-bis-(difenil-fosfina) (103 miligramos, 0.191 milimoles). La mezcla de reacción se roció con nitrógeno, y se agregaron benzofenona-imina (0.11 mililitros, 0.656 milimoles), y terbutóxido de potasio (0.710 mililitros, 1 M en tetrahidrofurano (THF), 0.710 milimoles) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 2 horas, y la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró a través de un cojín de Celite, y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano), para proporcionar la 6-((difenil-metileno)amino)-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (250 miligramos, 0.425 milimoles). MS *m/z* 588.3 $(M+H)^+$.

Paso c: A una suspensión de 6-((difenil-metileno)amino)-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (130 miligramos, 0.221 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (6 mililitros), se le agregó HCl (2 M, 0.1 mililitros, 0.200 milimoles), y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente

durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano, que contiene trietil-amina al 0.25 por ciento), para proporcionar la 6-amino-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (43 miligramos, 0.102 milimoles). MS *m/z* 424.1 $(M+H)^+$.

Paso d: Una solución de 6-amino-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-amino)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida (199 miligramos, 0.470 milimoles) en ácido trifluoro-acético (TFA) (3 mililitros) se calentó a 100°C durante 30 minutos. La mezcla se concentró bajo presión reducida, y el residuo se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida. MS *m/z* 290.2 $(M+H)^+$.

Paso e: A una solución de (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-nicotinamida en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se le agregaron trietil-amina (0.196 mililitros, 1.410 milimoles), y dicarbonato de diterbutilo (113 miligramos, 0.517 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano, que contenía trietil-amina al 0.25 por ciento), para proporcionar el (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-piridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (147 miligramos, 0.377 milimoles). ^{1}H RMN

(400 MHz, Metanol-d_4) δ 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H), 6.19 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 3.66 (t, J = 7.7 Hz, 1 H), 3.27–3.15 (m, 2 H), 2.98 (t, *J* = 12.4 Hz, 2 H), 2.05–1.94 (m, 1 H), 1.86–1.46 (m, 8 H), 1.45 (s, 9 H), 1.41 (d, J = 6.0 Hz, 1 H). MS *m/z* 390.3 $(M+H)^+$.

Paso f: A una solución del (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-piridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (136 miligramos, 0.349 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (5 mililitros), enfriada sobre un baño de hielo, se le agregó *N*-yodo-succinimida (86 miligramos, 0.384 milimoles). La mezcla resultante se agitó a 5°C durante 2 horas. La reacción se apagó mediante la adición de 2 mililitros de metanol, y la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Los solventes se removieron bajo presión reducida. El producto crudo se extrajo con dicloro-metano (DCM), y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida, para proporcionar el (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-yodopiridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (170 miligramos, 0.330 milimoles), el cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m/z* 516.1 $(M+H)^+$.

Paso g: A una solución del (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-yodopiridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (177 miligramos, 0.343 milimoles) en dioxano (10 mililitros), se le agregaron $Pd_2(dba)_3$ (31.4 miligramos, 0.034 milimoles), (9,9-dimetil-9*H*-xanten-4,5-di-il)-bis-(difenil-fosfina) (39.7 miligramos, 0.069 milimoles), 2-(trifluoro-metil)-piridin-3-tiol (67.7 miligramos, 0.378 mili-

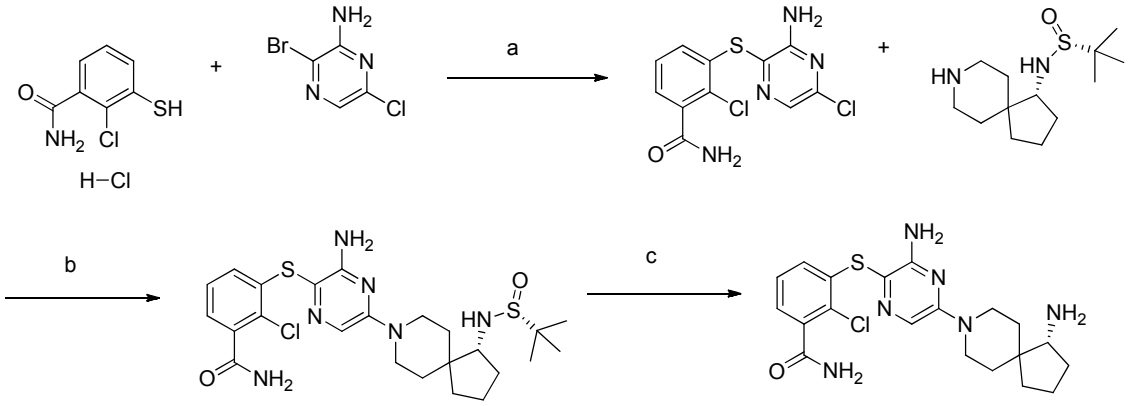
moles), y *N*,*N*-di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.120 mililitros, 0.687 milimoles). La mezcla resultante se calentó a 120°C durante 2 horas, y entonces se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, y se filtró a través de un cojín corto de Celite. El filtrado se concentró bajo presión reducida, y se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de acetato de etilo/heptano, que contenía trietil-amina al 0.25 por ciento), para proporcionar el (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-piridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (115 miligramos, 0.203 milimoles). MS *m/z* 567.2 $(M+H)^+$.

Paso h: A una solución del (*R*)-(8-(6-amino-3-carbamoil-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-piridin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-carbamato de terbutilo (110 mililitros, 0.194 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se le agregó ácido trifluoro-acético (TFA) (2 mililitros, 26 milimoles), y la mezcla resultante se dejó agitándose a temperatura ambiente durante 1 hora. Los solventes se removieron bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante HPLC (elución en gradiente: del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para proporcionar la (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-nicotinamida (40 miligramos, 0.084 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d_4) δ 8.38 (dd, J = 4.1, 1.9 Hz, 1 H), 7.93 (s, 1 H), 7.56-7.31 (m, 2 H), 3.77-3.55 (m, 2 H), 3.16-2.98 (m, 2 H), 2.82 (t, *J* = 7.4 Hz, 1 H), 2.03 (m, 1 H), 1.94-1.60

(m, 5 H), 1.60-1.20 (m, 4 H). ^{19}F RMN (376 MHz, Metanol-d_4) δ -66.48. HRMS calculada para $C_{21}H_{26}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 467.1841, encontrada 467.1837. La IC_{50} es de 0.118 μM.

Ejemplo 40

(*R*)-3-((3-amino-5-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida



Paso a: Una mezcla de 2-cloro-3-mercapto-benzamida (sal de HCl, 145 miligramos, 0.647 milimoles), 3-bromo-6-cloro-pirazin-2-amina (299 miligramos, 1.436 milimoles), yoduro de cobre (I) (49.3 miligramos, 0.259 milimoles), fosfato de potasio (412 miligramos, 1.941 milimoles), y 1,10-fenantrolina (58.3 miligramos, 0.324 milimoles) en dioxano (5 mililitros, desgasificado), se agitó en un reactor de microondas durante 4 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con EtOAc (50 mililitros). Los filtrados combinados se concentraron, y el residuo resultante se

purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para proporcionar la 3-((3-amino-5-cloro-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida (140 miligramos, 0.444 mili-moles). MS *m/z* 315.0 $(M+H)^+$.

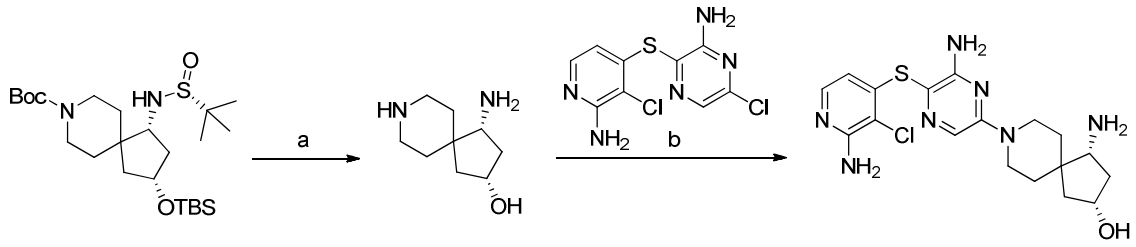
Paso b: Una mezcla de 3-((3-amino-5-cloro-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida (130 miligramos, 0.412 milimoles), y (*R*)-2-metil-*N-((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (139 mili-gramos, 0.536 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.648 mililitros), se agitó en un reactor de microondas durante 14 horas a 95°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de metanol (MeOH)/dicloro-metano (DCM) conteniendo trietil-amina (TEA) al 0.25 por ciento), para proporcionar la 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*R*)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida (65 miligramos, 0.121 milimoles). MS *m/z* 537.2 $(M+H)^+$.

Paso c: La 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*R*)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida (65 miligramos, 0.121 milimoles) se disolvió en HCl/dioxano (4 M, 0.121 mililitros, 0.484 milimoles), y se agitó a 22°C hasta que ya no quedó nada de material de partida (1 hora, monitoreado mediante LCMS). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente: del 25 al 50 por ciento de acetonitrilo en agua,

modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la *R*)-3-((3-amino-5-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-2-cloro-benzamida (25.5 miligramos, 0.058 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.90 (s, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.62 (br. s., 1 H), 7.28-7.18 (m, 1 H), 7.18-7.09 (m, 1 H), 6.64 (dd, J = 1.6, 7.9 Hz, 1 H), 6.08 (s, 2 H), 4.18-4.07 (m, 2 H), 3.12-2.95 (m, 2 H), 2.74-2.64 (m, 1 H), 1.91-1.73 (m, 2 H), 1.66-1.47 (m, 4 H), 1.39-1.14 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 433.1577, encontrada 433.1598; IC_{50} es 0.016 µM.

Ejemplo 41

(2*R*,4*R*)-4-amino-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-2-ol



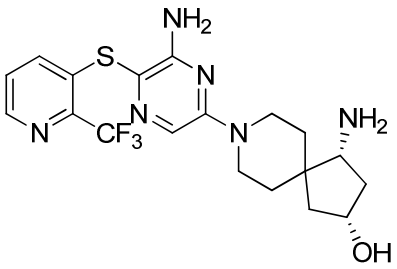
Paso a: Una mezcla de (1*R*,3*R*)-3-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (100 miligramos, 0.205 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 510 microlitros, 2.05 milimoles) en metanol (MeOH) (1 mililitro), se agitó durante 1 hora a 40°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo blanco resultante se secó al vacío durante 1 hora. MS *m*/*z* 171.1 $(M+H)^+$.

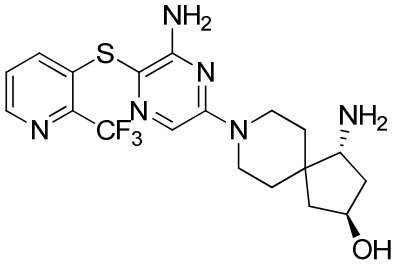
Paso b: Una mezcla de este residuo blanco y 3-((2-amino-3-

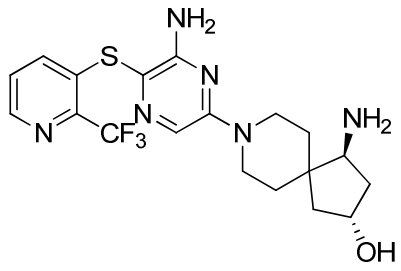
cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (65 miligramos, 0.226 milimoles) en DIPEA:NMP (2:1; 1.5 mililitros) se agitó vigorosamente durante 40 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 7.5 al 20 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó adicionalmente mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar el (2*R*,4*R*)-4-amino-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-2-ol (44 miligramos, 0.102 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.51-7.64 (m, 2 H), 5.92 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 4.16-4.39 (m, 3 H), 3.00-3.21 (m, 2 H), 2.80 (dd, J = 8.08, 7.07 Hz, 1 H), 2.33 (dt, J = 13.45, 6.79 Hz, 1 H), 1.95 (dd, J = 13.89, 7.58 Hz, 1 H), 1.83 (dd, J = 14.02, 4.17 Hz, 1 H), 1.61-1.74 (m, 3 H), 1.56 (ddd, J = 13.39, 8.08, 5.81 Hz, 1 H), 1.30 (d, J = 13.14 Hz, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{25}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 422.1557, encontrada 422.1569. La IC_{50} es 0.007 μM.

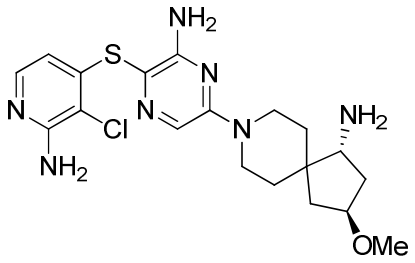
Los siguientes compuestos de la Tabla 9 se sintetizaron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina protegida correspondiente y el intermediario de cloro-pirazina.

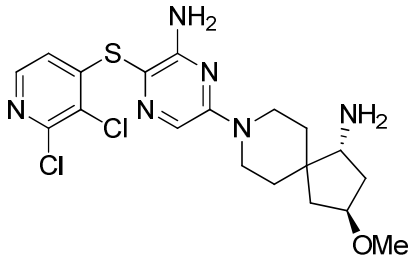
Tabla 9

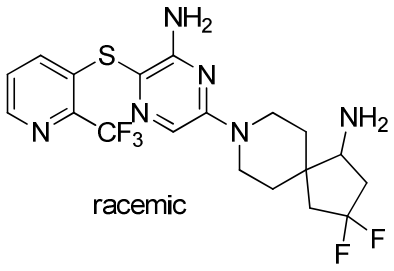
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
42		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.39 (dd, J = 4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.22-7.50 (m, 2 H), 4.20-4.38 (m, 3 H), 2.97-3.22 (m, 2 H), 2.84 (t, J = 7.45 Hz, 1 H), 2.34 (dt, J = 13.39, 6.69 Hz, 1 H), 1.89-2.07 (m, 1 H), 1.78-1.89 (m, 1 H), 1.51-1.75 (m, 4 H), 1.32 (d, J = 12.88 Hz, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.48. HRMS calculada para $C_{19}H_{24}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 441.1684, encontrada 441.1657.	0.007

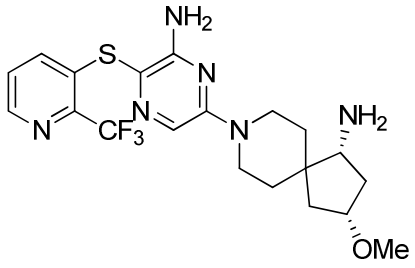
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
43		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.34-8.47 (m, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.32-7.49 (m, 2 H), 4.34 (td, J = 6.69, 3.28 Hz, 3 H), 2.96-3.18 (m, 3 H), 2.28 (dd, J = 14.15, 7.07 Hz, 1 H), 1.99 (ddd, J = 13.58, 6.88, 2.53 Hz, 1 H), 1.68-1.87 (m, 2 H), 1.52-1.62 (m, 2 H), 1.49 (dd, J = 13.26, 2.15 Hz, 1 H), 1.24-1.41 (m, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.48. HRMS calculada para $C_{19}H_{24}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 441.1684, encontrada 441.1651.	0.006

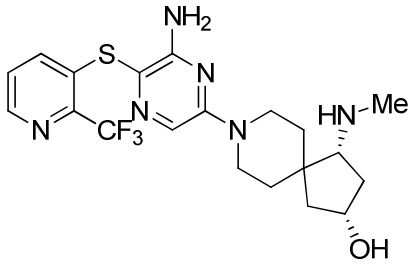
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
44		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.39 (dd, J = 4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.30-7.50 (m, 2 H), 4.15-4.42 (m, 3 H), 2.98-3.21 (m, 2 H), 2.83 (t, J = 7.45 Hz, 1 H), 2.34 (dt, J = 13.45, 6.79 Hz, 1 H), 1.89-2.04 (m, 1 H), 1.76-1.89 (m, 1 H), 1.51-1.76 (m, 4 H), 1.32 (d, J = 12.88 Hz, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.48. HRMS calculada para $C_{19}H_{24}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 441.1684, encontrada 441.1721.	0.135

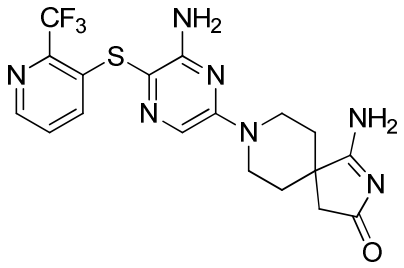
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
45		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.48-7.67 (m, 2 H), 5.92 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 4.21-4.38 (m, 2 H), 3.92 (dt, J = 7.07, 3.54 Hz, 1 H), 3.28 (s, 3 H), 2.94-3.18 (m, 3 H), 2.25 (dd, J = 14.02, 7.20 Hz, 1 H), 2.07 (ddd, J = 13.77, 6.95, 2.53 Hz, 1 H), 1.68-1.83 (m, 2 H), 1.51-1.68 (m, 2 H), 1.42 (dd, J = 13.14, 2.27 Hz, 1 H), 1.28-1.38 (m, 1 H), 1.08-1.20 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{27}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 436.1686, encontrada 436.1666.	0.044

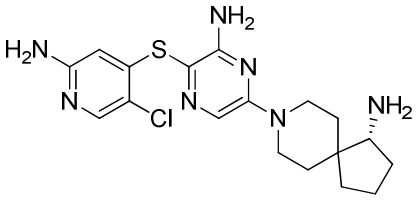
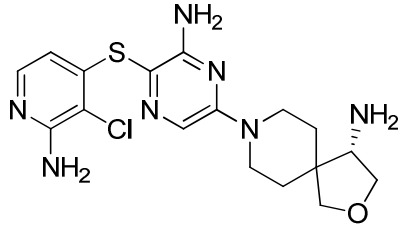
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
46		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.99 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 6.61 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 4.24-4.42 (m, 2 H), 3.92 (tt, J = 6.88, 3.35 Hz, 1 H), 3.28 (s, 3 H), 3.03-3.18 (m, 2 H), 3.00 (dd, J = 8.72, 7.20 Hz, 1 H), 2.25 (dd, J = 14.15, 7.33 Hz, 1 H), 2.08 (ddd, J = 13.83, 6.88, 2.53 Hz, 1 H), 1.68-1.82 (m, 2 H), 1.51-1.68 (m, 2 H), 1.44 (dd, J = 13.14, 2.27 Hz, 1 H), 1.29-1.40 (m, 1 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{25}Cl_2N_6OS$ $(M+H)^+$ 455.1188, encontrada 455.1166.	0.038

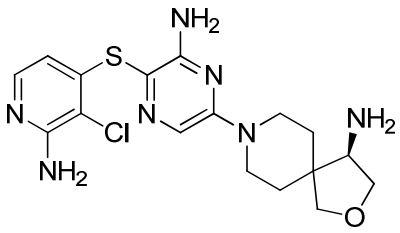
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
47	 racemic	^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.39 (dd, J = 4.29, 1.26 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.30-7.51 (m, 2 H), 4.20-4.44 (m, 2 H), 2.94-3.20 (m, 3 H), 2.35-2.61 (m, 2 H), 1.94-2.20 (m, 2 H), 1.81 (td, J = 12.69, 4.17 Hz, 1 H), 1.69 (td, J = 12.69, 3.92 Hz, 1 H), 1.48-1.59 (m, 1 H), 1.44 (dd, J = 13.39, 2.27 Hz, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.46, -84.76, -85.11. HRMS calculada para $C_{19}H_{22}F_5N_6S$ $(M+H)^+$ 461.1547, encontrada 461.1548.	0.021

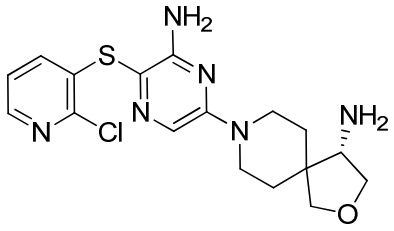
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
48		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.38 (dd, J = 4.29, 1.26 Hz, 1 H), 7.54-7.63 (m, 1 H), 7.31-7.49 (m, 2 H), 4.15-4.38 (m, 2 H), 3.81-3.96 (m, 1 H), 3.27-3.29 (m, 3 H), 3.02-3.19 (m, 2 H), 2.82 (t, J = 7.58 Hz, 1 H), 2.34 (dt, J = 13.71, 6.92 Hz, 1 H), 1.93-2.06 (m, 1 H), 1.75-1.93 (m, 1 H), 1.50-1.75 (m, 4 H), 1.24-1.39 (m, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.43. HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 455.1841, encontrada 455.1801.	0.009

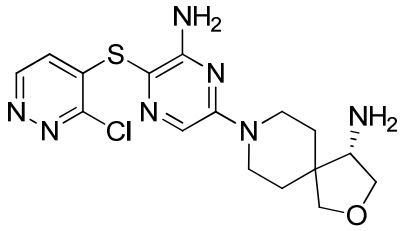
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
49		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.38 (dd, J = 4.29, 1.26 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 7.35-7.46 (m, 2 H), 4.21-4.40 (m, 3 H), 2.97-3.17 (m, 2 H), 2.56 (dd, J = 9.22, 6.44 Hz, 1 H), 2.34-2.46 (m, 4 H), 1.91-2.05 (m, 1 H), 1.74-1.91 (m, 2 H), 1.68 (dd, J = 7.83, 3.79 Hz, 2 H), 1.56 (ddd, J = 12.82, 9.16, 6.57 Hz, 1 H), 1.34 (d, J = 13.39 Hz, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66.46. HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 455.1841, encontrada	0.234

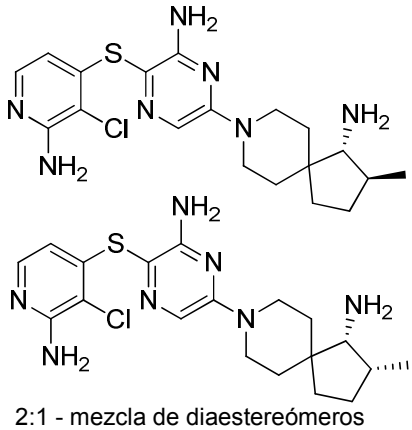
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		455.1861.	
50		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.47 (dd, J = 4.4, 1.4 Hz, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.56 (dd, J = 8.2, 4.6 Hz, 1 H), 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 6.23 (s, 2 H), 4.44 (d, J = 13.5 Hz, 2 H), 2.97-2.80 (m, 2 H), 2.46 (s, 2 H), 1.94 (td, J = 13.1, 4.3 Hz, 2 H), 1.48 (d, J = 12.6 Hz, 2H). HRMS calculada para $C_{18}H_{19}F_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 438.1318, encontrada 438.1418.	0.610

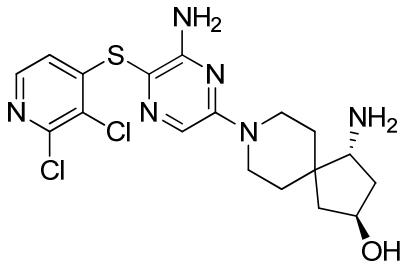
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
51		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.76 (s, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 5.90 (s, 1 H), 4.27 (t, J = 13.01 Hz, 2 H), 3.08-3.21 (m, 2 H), 2.83 (t, J = 7.45 Hz, 1 H), 1.99-2.11 (m, 1 H), 1.29-1.96 (m, 9 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{25}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 406.1581, encontrada 406.1595.	0.010
52		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7.64-7.59 (m, 2 H), 6.14 (dd, J = 6.5, 2.2 Hz, 1 H), 4.36-4.21 (m, 2 H), 4.18 (dd, J = 10.6, 5.6 Hz, 1 H), 3.97 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 3.90 (d,	0.007

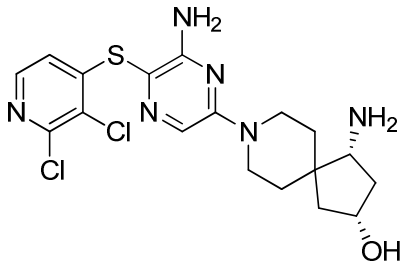
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		J = 9.2 Hz, 1 H), 3.84 (dd, J = 10.7, 2.8 Hz, 1 H), 3.58 (dd, J = 5.6, 2.8 Hz, 1 H), 3.28-3.11 (m, 2 H), 1.85-1.71 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{23}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 408.1373, encontrada 408.1475.	
53		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7.65-7.57 (m, 2 H), 6.14 (dd, J = 6.5, 2.2 Hz, 1 H), 4.34-4.21 (m, 2 H), 4.18 (dd, J = 10.6, 5.6 Hz, 1 H), 3.97 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 3.90 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 3.84 (dd, J = 10.7, 2.8 Hz, 1 H), 3.58 (dd, J = 5.6, 2.8 Hz, 1 H), 3.27-	0.298

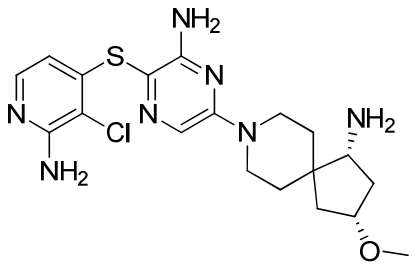
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		3.09 (m, 2 H), 1.85-1.71 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{23}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 408.1373, encontrada 408.1474.	
54		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 8.10 (dd, J = 4.7, 1.8 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 7.21 (dd, J = 7.9, 4.7 Hz, 1 H), 7.11 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1 H), 4.22-4.07 (m, 3 H), 3.86 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.79 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 3.50 (dd, J = 9.0, 5.2 Hz, 1 H), 3.28-3.11 (m, 3 H), 1.82-1.65 (m, 2 H), 1.65-1.50 (m, 2 H). HRMS calculada para	0.010

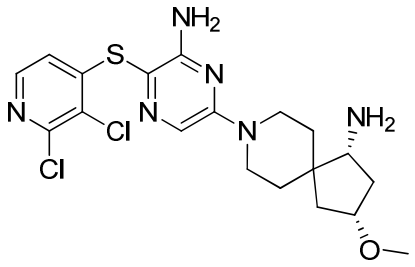
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		$C_{17}H_{22}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 393.1264, encontrada 393.1278.	
55		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.86 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 6.83 (d, J = 5.4 Hz, 1 H), 6.34 (s, 2 H), 4.11-3.90 (m, 3 H), 3.65 (dd, J = 46.4, 8.4 Hz, 2 H), 3.27-3.16 (m, 3 H), 3.05 (t, J = 6.2 Hz, 1 H), 1.73-1.49 (m, 3 H), 1.47-1.35 (m, 2 H). HRMS calculada para $C_{16}H_{21}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 394.1217, encontrada 394.0713.	0.073

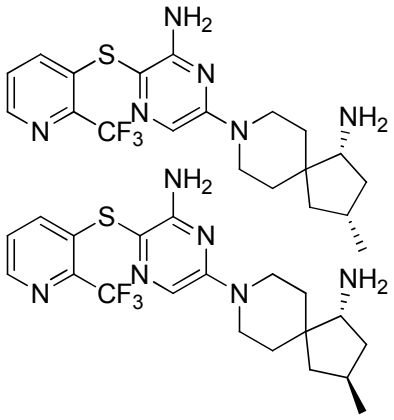
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
56	 2:1 - mezcla de diaestereómeros	*Diaestereómero mayor*: ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7.68-7.48 (m, 2 H), 5.92 (d, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 4.21-4.04 (m, 2 H), 3.28-3.10 (m, 2 H), 2.79 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 2.44-2.23 (m, 1 H), 1.94-1.40 (m, 8 H), 1.01 (d, J = 7.0 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{27}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 420.1737, encontrada 420.1748. *Diaestereómero menor*: ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7.66-7.49 (m, 2 H), 5.92 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.36 (t, J = 12.0 Hz, 2 H), 3.16-2.90 (m, 2 H), 2.17 (d, J =	0.009

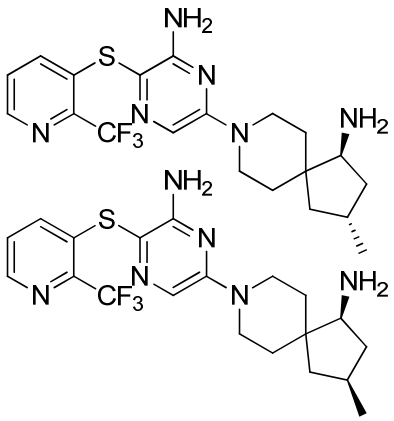
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		10.0 Hz, 1 H), 1.94-1.53 (m, 6 H), 1.37-1.27 (m, 3 H), 1.08 (d, J = 6.5 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{27}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 420.1737, encontrada 420.1748.	
57		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.99 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 6.61 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 4.36 (dt, J = 6.63, 3.38 Hz, 3 H), 2.99-3.19 (m, 3 H), 2.28 (dd, J = 14.02, 6.95 Hz, 1 H), 1.95-2.08 (m, 1 H), 1.72-1.90 (m, 2 H), 1.44-1.68 (m, 3 H), 1.36 (d, J = 11.12 Hz, 1 H). HRMS	0.003

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		calculada para $C_{18}H_{23}Cl_2N_6OS$ $(M+H)^+$ 441.1031, encontrada 441.0937.	
58		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.99 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 6.61 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 4.23-4.39 (m, 3 H), 3.01-3.22 (m, 2 H), 2.85 (t, J = 7.33 Hz, 1 H), 2.34 (dt, J = 13.39, 6.69 Hz, 1 H), 1.97 (dd, J = 14.15, 7.33 Hz, 1 H), 1.85 (dd, J = 14.02, 3.92 Hz, 1 H), 1.50-1.74 (m, 4 H), 1.33 (d, J = 13.64 Hz, 1 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}Cl_2N_6OS$ 441.1031 $(M+H)^+$,	0.004

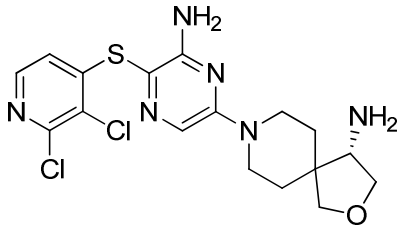
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		encontrada 441.1020.	
59		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.51-7.64 (m, 2 H) 5.91 (d, J = 5.56 Hz, 1 H) 4.19-4.37 (m, 2 H) 3.83-3.96 (m, 1 H) 3.28 (s, 3 H) 3.01-3.20 (m, 2 H) 2.80 (t, J = 7.58 Hz, 1 H) 2.34 (dt, J = 13.71, 6.92 Hz, 1 H) 1.94-2.04 (m, 1 H) 1.78-1.90 (m, 1 H) 1.53-1.75 (m, 4 H) 1.30 (d, J = 13.39 Hz, 1 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 436.1686, encontrada 436.1663.	0.010

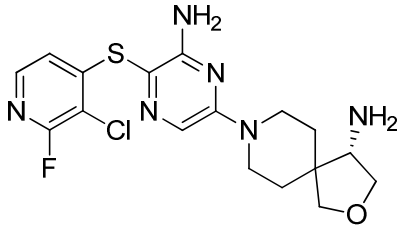
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
60		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.51-7.64 (m, 2 H) 5.91 (d, J = 5.56 Hz, 1 H) 4.19-4.37 (m, 2 H) 3.83-3.96 (m, 1 H) 3.28 (s, 3 H) 3.01-3.20 (m, 2 H) 2.80 (t, J = 7.58 Hz, 1 H) 2.34 (dt, J = 13.71, 6.92 Hz, 1 H) 1.94-2.04 (m, 1 H) 1.78-1.90 (m, 1 H) 1.53-1.75 (m, 4 H) 1.30 (d, J = 13.39 Hz, 1 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 436.1188, encontrada 455.1234.	0.004

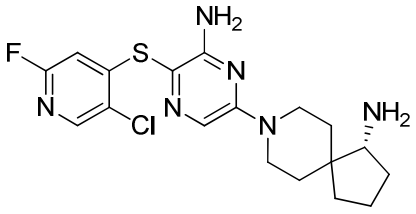
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
61		Purificación mediante SFC quiral llevada a cabo como sigue; columna: ADH 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: IPA al 30 por ciento y NH_4OH 5 mM en CO_2, detección: 260 nanómetros UV para obtener dos picos R_t(Pico 1) = 3.5 minutos. RMN fue una mezcla de diaestereómeros (como se ilustra). Diaestereómero mayor: ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.38 (dd, J = 4.42, 1.39 Hz, 1 H),	0.007

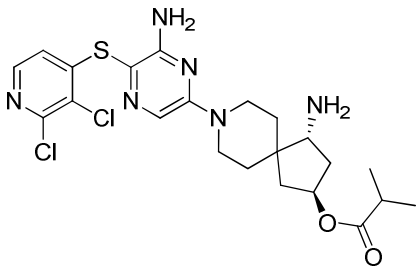
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		7.51-7.66 (m, 1 H), 7.33-7.48 (m, 2 H), 4.14-4.38 (m, 2 H), 2.95-3.21 (m, 2 H), 2.72-2.95 (m, 1 H), 2.19-2.34 (m, 1 H), 1.86-2.19 (m, 1 H), 1.52-1.81 (m, 3 H), 1.24-1.48 (m, 3 H), 0.93-1.20 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 439.1892, encontrada 439.1897.	
62		Purificación mediante SFC quiral llevada a cabo como sigue; columna: ADH 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: IPA al 30	0.100

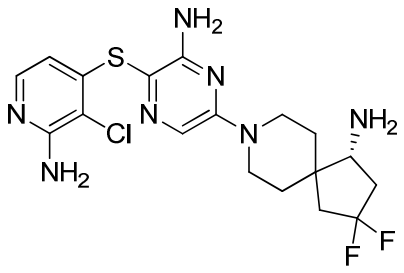
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		por ciento y NH_4OH 5 mM en CO_2, detección: 260 nanómetros UV para obtener dos picos R_t(Pico 2) = 4.5 minutos. RMN fue una mezcla de diaestereómeros (como se ilustra). Diaestereómero mayor: ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.38 (dd, J = 4.55, 1.26 Hz, 1 H), 7.54-7.66 (m, 1 H), 7.32-7.49 (m, 2 H), 4.15-4.39 (m, 2 H), 2.98-3.19 (m, 2 H), 2.76-2.98 (m, 1 H), 2.19-2.31 (m, 1 H), 1.91-2.14 (m, 1 H), 1.52-1.81 (m, 3 H),	

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		1.26-1.49 (m, 3 H), 0.99-1.21 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 439.1892, encontrada 439.1927.	
63		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.10 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 6.52-6.62 (m, 1 H), 6.32 (br. s, 2 H), 3.97-4.11 (m, 2 H), 3.95 (dd, J = 8.5, 6.5 Hz, 1 H), 3.71 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 3.59 (d, J = 8.3 Hz, 1 H), 3.29 (dd, J = 8.5, 5.8 Hz, 1 H), 3.15-3.25 (m, 2 H), 3.04 (t, J = 6.1 Hz, 1 H), 1.51-1.70 (m, 4 H), 1.35-1.46 (m, 2 H). HRMS	0.007

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		calculada para $C_{17}H_{21}Cl_2N_6OS$ $(M+H)^+$ 427.3513, encontrada 427.0852.	
64		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.93 (d, J = 5.0 Hz, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 6.52 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 6.32 (s, 2 H), 3.97-4.10 (m, 2 H), 3.95 (dd, J = 8.5, 6.8 Hz, 1 H), 3.71 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 3.60 (d, J = 8.3 Hz, 1 H), 3.30 (dd, J = 8.5, 5.8 Hz, 1 H), 3.20 (ddd, J = 13.4, 10.5, 3.0 Hz, 2 H), 3.05 (t, J = 6.1 Hz, 1 H), 1.52-1.70 (m, 2 H), 1.41 (td, J = 8.8, 4.6 Hz, 2 H). HRMS calculada para	0.013

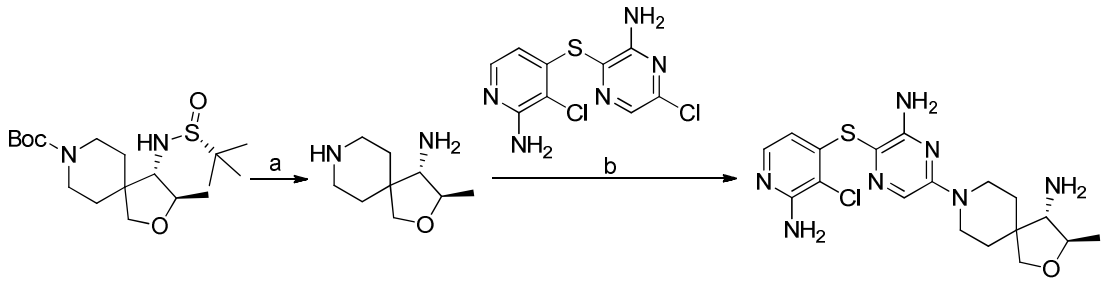
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		$C_{17}H_{21}ClFN_6OS$ $(M+H)^+$ 411.1170, encontrada 411.1165.	
65		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.09 (s, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 6.21 (d, J = 1.8 Hz, 1 H), 4.30 (t, J = 13.5 Hz, 2 H), 3.22-3.07 (m, 2 H), 2.82 (br s, 1 H), 2.09-1.98 (m, 1 H), 1.95-1.86 (m, 1 H), 1.83-1.55 (m, 5 H), 1.52-1.28 (m, 3 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}ClFN_6S$ $(M+H)^+$ 409.1377, encontrada 409.1369.	0.310

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
66		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.99 (d, J = 5.52 Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 6.61 (d, J = 5.27 Hz, 1 H), 5.19 (td, J = 6.84, 3.39 Hz, 1 H), 4.20-4.44 (m, 2 H), 2.96-3.19 (m, 3 H), 2.52 (quinteto, J = 6.96 Hz, 1 H), 2.38 (dd, J = 14.56, 7.28 Hz, 1 H), 1.98-2.11 (m, 1 H), 1.86-1.98 (m, 1 H), 1.72-1.86 (m, 1 H), 1.54-1.72 (m, 2 H), 1.33-1.51 (m, 2 H), 1.05-1.18 (m, 6 H). HRMS calculada para $C_{22H29}Cl_2N_6O_2S$ $(M+H)^+$ 511.1450, encontrada 511.1453.	0.065

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
67		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.53-7.64 (m, 2 H), 5.91 (d, J = 5.56 Hz, 1 H), 4.24-4.43 (m, 2 H), 2.95-3.18 (m, 3 H), 2.36-2.61 (m, 2 H), 1.95-2.19 (m, 2 H), 1.81 (td, J = 12.76, 4.29 Hz, 1 H), 1.69 (td, J = 12.69, 3.92 Hz, 1 H), 1.54 (dd, J = 13.26, 2.15 Hz, 1 H), 1.43 (dd, J = 13.39, 2.53 Hz, 1 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ ppm -84.69, -85.07. HRMS calculada para $C_{18}H_{23}ClF_2N_7O_2S$ $(M+H)^+$ 442.1392, encontrada 442.1443.	0.010

Ejemplo 68

(3*R*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina



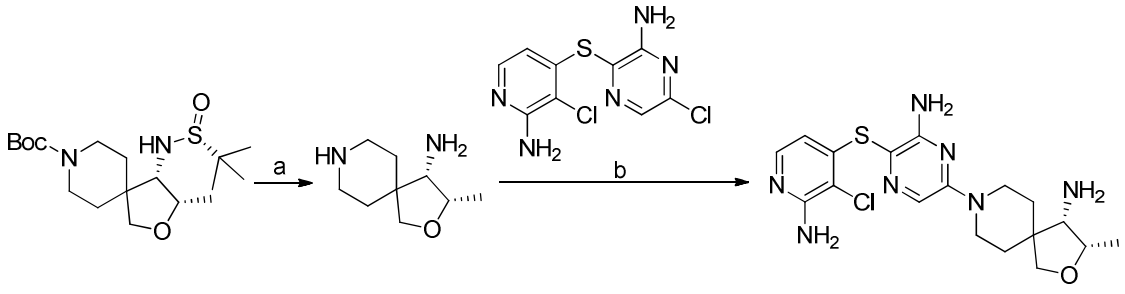
Paso a: Una mezcla de (3*R*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (53 miligramos, 0.142 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 354 microlitros, 1.415 milimoles) en metanol (MeOH) (5 mililitros) se agitó durante 1 hora a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (3*R*,4*S*)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m*/*z* 171.1 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de la (3*R*,4*S*)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina cruda, 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (35.5 miligramos, 0.123 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (193 microlitros, 1.11 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (600 microlitros), se agitó durante 16

horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (3*R*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina (13 miligramos, 0.030 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.72-7.51 (m, 2 H), 5.92 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.31 (m, 2 H), 4.01-3.78 (m, 2 H), 3.58 (dq, J = 8.1, 6.0 Hz, 1 H), 3.04 (m, 2 H), 2.48 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 1.75 (m, 2 H), 1.61-1.47 (m, 2 H), 1.31 (d, J = 6.1 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{25}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 422.1530, encontrada 422.1505. La IC_{50} es 0.010 µM.

Ejemplo 69

(3*S*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina



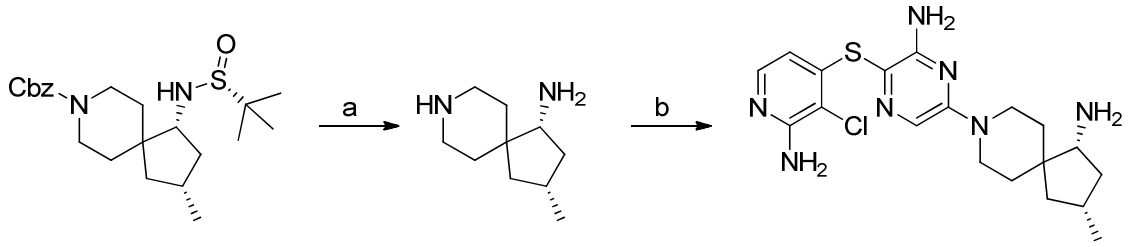
Paso a: Una mezcla de (3*S*,4*S*)-4-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (51 miligramos, 0.136 milimoles), y HCl (4 M en dioxano,

340 microlitros, 1.362 milimoles) en metanol (MeOH) (5 mililitros), se agitó durante 1 hora a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (3*S*,4*S*)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m*/*z* 171.1 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de la (3*S*,4*S*)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina cruda, 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (35.5 miligramos, 0.123 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (193 microlitros, 1.11 milimoles) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (600 microlitros), se agitó durante 16 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (3*S*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-2-oxa-8-aza-espiro-[4.5]-decan-4-amina (11 miligramos, 0.026 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.67-7.47 (m, 2 H), 5.91 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.22 (qd, J = 6.4, 4.8 Hz, 1 H), 4.03 (ddt, J = 13.5, 8.9, 4.7 Hz, 2 H), 3.86 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 3.71 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 3.37 (td, J = 9.9, 4.9 Hz, 1 H), 3.29-3.23 (m, 1 H), 3.00 (d, J = 5.0 Hz, 1H) 1.91-1.56 (m, 4 H), 1.21 (d, J = 6.4 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{25}ClN_7OS$ $(M+H)^+$ 422.1530, encontrada 422.1514. La IC_{50} es 0.010 μM.

Ejemplo 70

(1*R*,3*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



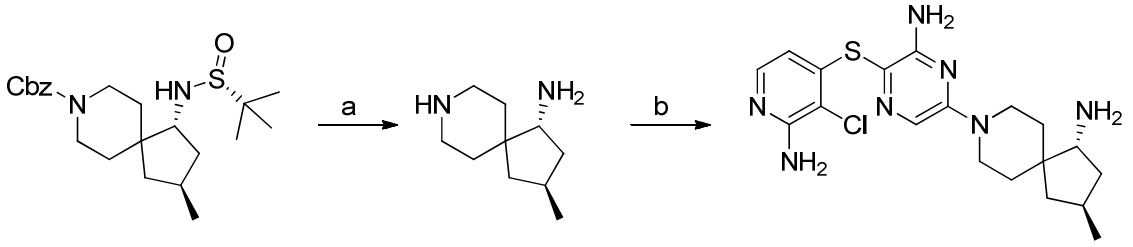
Paso a: Una mezcla de (1*R*,3*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (100 miligramos, 0.246 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 1.5 mililitros, 6.5 milimoles) en metanol (MeOH) (1.5 mililitros), se agitó en un reactor de microondas durante 14 horas a 140°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la (1*R*,3*R*)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m/z* 169.2 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de la (1*R*,3*R*)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina cruda (teórico: 0.246 milimoles), y 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (70.9 miligramos, 0.246 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1 mililitro), y sulfóxido de dimetilo (DMSO) (0.5 mililitros), se agitó durante 2 horas a 130°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento

de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (1*R*,3*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (23 miligramos, 0.055 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.51-7.64 (m, 2 H), 5.91 (d, J = 5.31 Hz, 1 H), 4.18-4.37 (m, 2 H), 3.02-3.18 (m, 2 H), 2.82 (dd, J = 9.60, 6.32 Hz, 1 H), 2.09-2.20 (m, 1 H), 2.00 a 2.09 (m, 1 H), 1.91-2.00 (m, 1 H), 1.58-1.74 (m, 2 H), 1.24-1.48 (m, 3 H), 1.09-1.20 (m, 1 H), 1.01-1.09 (m, 3 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{27}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 420.1737, encontrada 420.1719. La IC_{50} es de 0.005 μM.

Ejemplo 71

(1*R*,3*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: Una suspensión de (1*R*,3*S*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de bencilo (600 miligramos, 1.476 milimoles), y $Pd(OH)_2$ (104 miligramos, 0.148 milimoles) en EtOAc:THF (1:2 75 mililitros), se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de H_2 durante 48 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con metanol (50 mililitros). Los volátiles se removieron

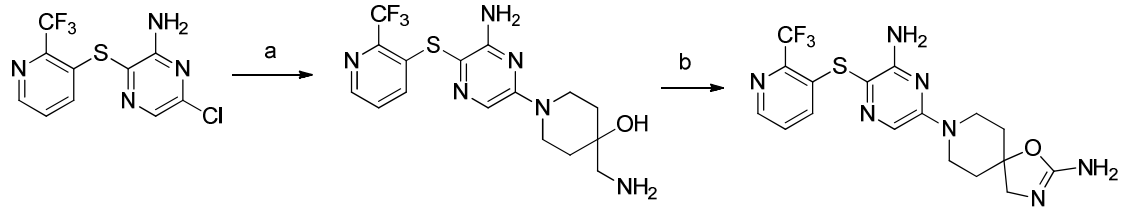
bajo presión reducida. Una solución del residuo resultante y HCl (4 M en dioxano, 1.0 mililitro, 4.0 milimoles), se agitó durante 2 horas a 45°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. Una suspensión del residuo resultante y Pd/C (al 10 por ciento en carbón, 200 miligramos) en metanol (MeOH) (20 mililitros) se agitó durante 2 horas bajo una atmósfera de H_2 a 60 psi (4.2 kilogramos/cm^2). La mezcla de reacción se filtró a través de un cojín de Celite, seguido por un lavado con metanol (50 mililitros). Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para proporcionar la (1*R*,3*S*)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación. MS *m/z* 169.1 $(M+H)^+$.

Paso b: Una mezcla de la (1*R*,3*S*)-3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina cruda (0.729 milimoles), y 3-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-6-cloro-pirazin-2-amina (150 miligramos, 0.521 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (3.2 mililitros), y DMA (6 mililitros), se agitó durante 14 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 10 al 30 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), para dar un sólido crudo. Este sólido crudo se purificó adicionalmente mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (1*R*,3*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-cloro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-

3-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (80 miligramos, 0.189 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.65-7.49 (m, 2 H), 5.91 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.30 (ddt, J = 12.4, 9.7, 3.6 Hz, 2 H), 3.34 (s, 1 H), 3.19-2.95 (m, 1 H), 2.92-2.80 (m, 1 H), 2.34-2.16 (m, 2 H), 1.85-1.49 (m, 4 H), 1.41 (dq, J = 13.5, 2.7 Hz, 1 H), 1.30 (dq, J = 13.5, 2.6 Hz, 1 H), 1.13-0.92 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{27}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 420.1737, encontrada 420.1716. La IC_{50} es 0.005 µM.

Ejemplo 72

8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-1-oxa-3,8-diazaespiro-[4.5]-dec-2-en-2-amina



Paso a: Una solución de 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (70 miligramos, 0.304 milimoles), ((4-hidroxi-piperidin-4-il)-metil)-carbamato de terbutilo (103 miligramos, 0.336 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.0 mililitros, 11.45 milimoles) en NMP (1 mililitro), se agitó durante 3 horas a 120°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, la fase orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, y los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar un residuo oleoso color café. Este residuo se absorbió en dicloro-metano (DCM) (5 mililitros), y se agregó HCl (4 M

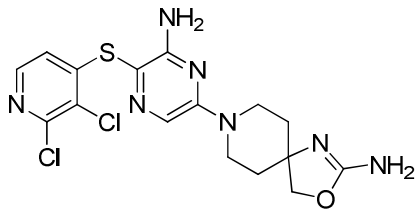
en dioxano; 760 microlitros, 3.04 milimoles) en dos porciones (la mitad al principio de la reacción y la otra mitad 3 horas después). La reacción se agitó durante un total de 4 horas. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se trituró con MeCN para dar un sólido color café. El producto crudo resultante se convirtió en la base libre mediante su suspensión en el 5 por ciento de metanol (MeOH)/dicloro-metano (DCM), y agregando $NaHCO_3$ acuoso saturado. Las capas resultantes se separaron y la capa acuosa se extrajo nuevamente con el 5 por ciento de metanol (MeOH)/dicloro-metano (DCM). Las fases orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida, para dar el 1-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-4-(amino-metil)-piperidin-4-ol (65 miligramos, 0.149 milimoles) como un sólido grisáceo-bronceado. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.47 (dd, J = 4.6, 1.4 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 7.55 (dd, J = 8.3, 4.5 Hz, 1H) 7.32 (dd, J = 8.3, 1.4 Hz, 1 H), 4.04 (dt, J = 13.8, 4.2 Hz, 2 H), 3.38-3.28 (m, 2 H), 2.83 (s, 2 H), 1.70-1.48 (m, 4 H). MS *m/z* 401.2 $(M+H)^+$.

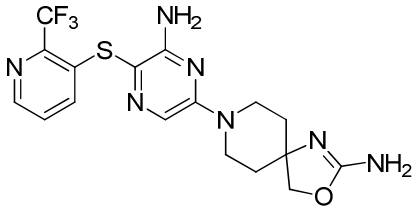
Paso b: Una solución del 1-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-4-(amino-metil)-piperidin-4-ol (65 miligramos, 0.162 milimoles) en EtOH (3 mililitros) se trató en sucesión con bromuro de cianógeno (0.541 mililitros, 1.623 milimoles), seguido por $NaHCO_3$ (68.2 miligramos, 0.812 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por

ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-1-oxa-3,8-diazaespiro-[4.5]-dec-2-en-2-amina (12.5 miligramos, 0.029 milimoles). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.46 (dd, J = 4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 7.55 (dd, J = 8.3, 4.6 Hz, 1 H), 7.31 (dd, J = 8.2, 1.5 Hz, 1 H), 6.22 (s, 2 H), 5.78 (s, 2 H), 3.94-3.73 (m, 2 H), 3.64-3.45 (m, 2 H), 3.36 (s, 2 H), 1.88-1.56 (m, 4 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{19}F_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 426.1318, encontrada 426.1296. La IC_{50} es de 0.193 µM.

Los siguientes compuestos de la Tabla 10 se sintetizaron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina protegida correspondiente y el intermediario de cloro-pirazina.

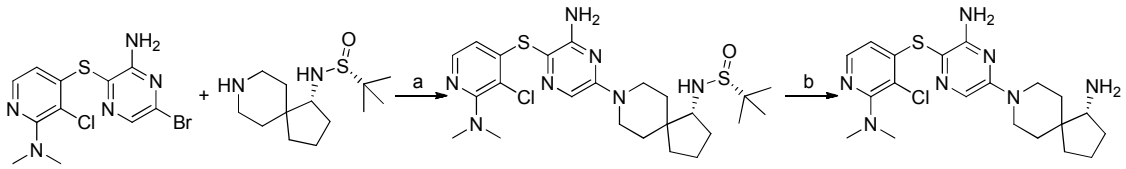
Tabla 10

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (µM)
73		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.10 (d, J = 5.2 Hz, 1 H), 7.69 (s, 1 H), 6.57 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 6.30 (s, 2 H), 4.06 (s, 2 H), 3.79-3.60 (m, 4 H), 1.75-1.52 (m, 4 H).	0.020

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		HRMS calculada para $C_{16}H_{18}Cl_2N_7OS$ $(M+H)^+$ 426.0665, encontrada 426.0628.	
74		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.40 (dd, J = 4.3, 1.7 Hz, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.52-7.30 (m, 2 H), 4.72 (s, 2 H), 4.00 (dt, J = 14.2, 5.1 Hz, 2 H), 3.54 (ddd, J = 13.5, 8.7, 3.8 Hz, 2 H), 1.97 (dtq, J = 17.6, 8.6, 4.1 Hz, 4 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{19}F_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 426.1318, encontrada 426.1344.	0.056

Ejemplo 75

(R)-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-(dimetil-amino)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



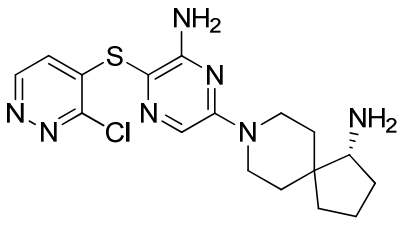
Paso a: Una mezcla de 6-bromo-3-((3-cloro-2-(dimetil-amino)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-amina (124 miligramos, 0.392 milimoles), y (*R*)-2-metil-*N*-*((R)*-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (111 miligramos, 0.431 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.6 mililitros) se agitó durante 10 horas a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de EtOAc (que contenía MeOH al 10 por ciento)/heptano (que contenía Et_3N al 25 por ciento)), para dar la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-(dimetil-amino)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (75 miligramos, 0.139 milimoles). MS *m/z* 538.3 $(M+H)^+$.

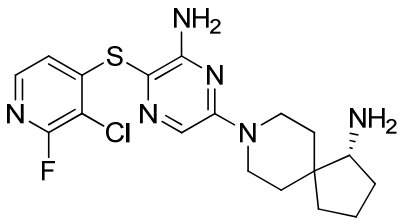
Paso b: Una mezcla de la (*R*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-(dimetil-amino)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (75 miligramos, 0.139 milimoles), y HCl (4 M en dioxano, 174 microlitros, 0.697 milimoles) en

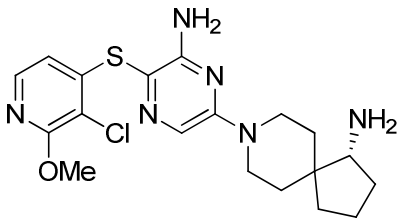
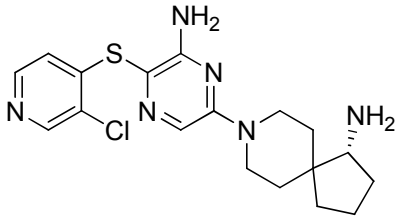
dicloro-metano (DCM) (2 mililitros), se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*R*)-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-(dimetil-amino)-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina (28 miligramos, 0.064 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.85-7.92 (m, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 6.16 (br. s, 2 H), 6.04-6.10 (m, 1 H), 4.06-4.23 (m, 2 H), 2.97-3.15 (m, 2 H), 2.87 (s, 6 H), 2.64-2.73 (m, 1 H), 1.11-1.97 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{29}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 434.1894, encontrada 434.1883. La IC_{50} es 0.010 μM.

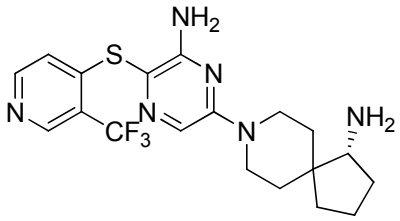
Los siguientes compuestos de la Tabla 11 se sintetizaron empleando el procedimiento anterior o modificaciones al procedimiento anterior utilizando la amina protegida correspondiente y el intermediario de cloro-pirazina.

Tabla 11

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
76		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.79 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 6.76 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 6.24 (s, 2 H), 4.09 (m, 2 H),	0.078

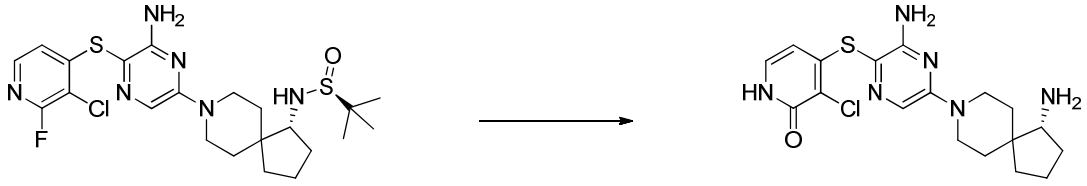
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		3.00 (m, 3 H), 2.65 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 1.76 (m, 2 H), 1.50 (m, 4 H), 1.37-1.05 (m, 5 H). HRMS calculada para $C_{17}H_{23}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 392.1424, encontrada 392.0977.	
77		Sal de TFA. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7.94 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.79 (br. s., 3 H), 7.69 (br. s., 1 H), 6.51 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 6.34 (br. s., 2 H), 4.12-4.32 (m, 2 H), 2.99-3.24 (m, 3 H), 2.00 a 2.12 (m, 1 H), 1.30-1.90 (m, 9 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{23}ClFN_6S$ $(M+H)^+$ 409.1377, encontrada	0.005

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		409.1385.	
78		^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.70-7.87 (m, 1 H), 7.52-7.64 (m, 1 H), 6.22 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.27 (t, J = 13.7 Hz, 2 H), 3.97 (br. s., 3 H), 3.03-3.20 (m, 2 H), 2.82 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 1.98-2.18 (m, 1 H), 1.24-1.96 (m, 9 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 421.1577, encontrada 421.1594.	0.015
79		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.49 (s, 1 H), 8.25 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 6.56 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 6.24 (s, 2 H),	0.023

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		4.07-4.26 (m, 2 H), 2.98-3.13 (m, 2 H), 2.70 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 1.11-1.94 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{24}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 391.1472, encontrada 391.1480.	
80		^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.77 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 6.77 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 6.23 (br. s, 2 H), 4.18 (t, J = 11.8 Hz, 2 H), 2.97-3.16 (m, 2 H), 2.72 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 1.09-1.97 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{24}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 425.1735, encontrada 425.1727.	0.042

Ejemplo 81

(*R*)-4-((3-amino-5-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-3-cloro-piridin-2(1*H*)-ona

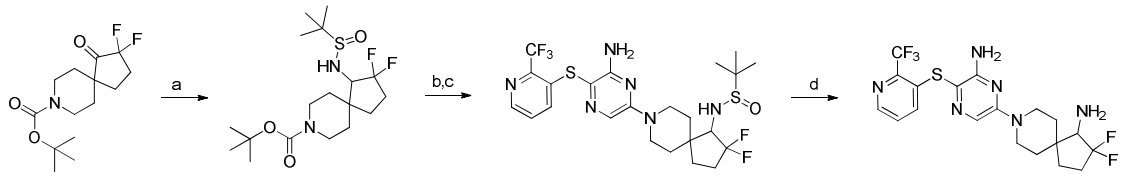


Una mezcla de (*S*)-*N*-*((R)*-8-(6-amino-5-((3-cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-tio)-pirazin-2-il)-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (17 miligramos, 0.033 milimoles), hidróxido de litio (2 miligramos, 0.040 milimoles), y agua (0.07 mililitros) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (0.3 mililitros), se agitó en un reactor de microondas durante 45 minutos a 90°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se agregó metanol (0.5 mililitros), seguido por HCl (4 M en dioxano, 2.0 mililitros, 8.0 milimoles), y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a 40°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 15 al 40 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de NH_4OH 5 mM), para dar la (*R*)-4-((3-amino-5-(1-amino-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-il)-pirazin-2-il)-tio)-3-cloro-piridin-2(1*H*)-ona (5 miligramos, 0.012 milimoles), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7.53-7.61 (m, 1 H), 7.19 (d, J = 7.1 Hz, 1 H), 5.72 (d, J = 7.1 Hz, 1 H), 4.26 (t, J = 13.1 Hz, 2 H), 3.06-3.20 (m, 2 H), 2.81 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 1.27-2.11 (m, 10 H). HRMS calculada para $C_{18}H_{24}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 407.1448,

encontrada 407.1433. La IC_{50} es 0.020 μM.

Ejemplo 82

8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina racémica



Paso a: Una solución del 2,2-difluoro-1-oxo-8-azaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (220 miligramos, 0.76 milimoles), 2-metil-propan-2-sulfinamida racémica (184 miligramos, 1.52 milimoles), y etóxido de titanio(IV) (0.640 mililitros, 3.0 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (4 mililitros), se agitó durante 30 minutos a 90°C. Después de enfriarse a 0°C, se agregó borohidruro de litio (33 miligramos, 1.5 milimoles) en una porción. Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de metanol. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con salmuera, se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 4 veces), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 10 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-(1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo como un polvo blanco (190 miligramos, 0.48 milimoles). MS *m/z* 395.2 $(M+H)^+$.

Paso b: Una solución del 1-(1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (190 miligramos, 0.48 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (1 mililitro) en dicloro-metano (DCM) (4 mililitros) se agitó durante 20 minutos a 0°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar la *N*-(2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

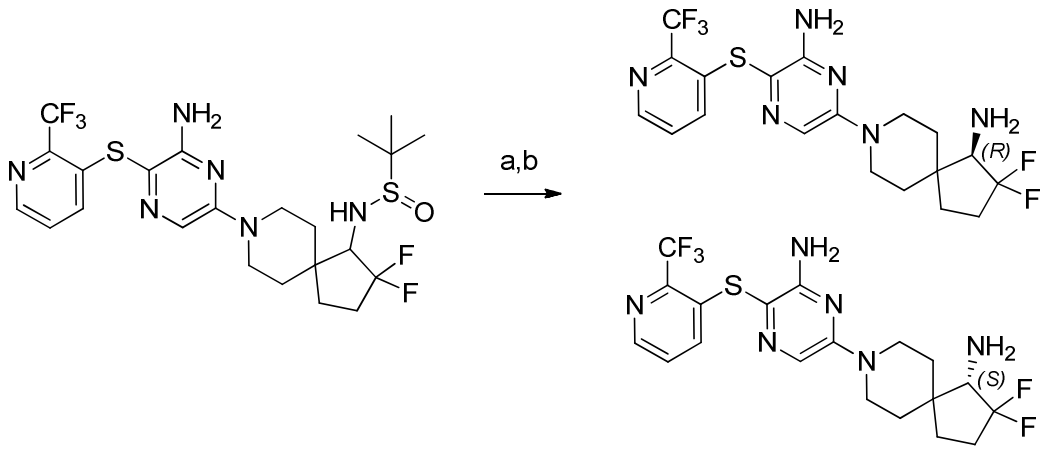
Paso c: Una solución de la *N*-(2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (teórico: 0.48 milimoles), y 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (148 miligramos, 0.480 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.8 mililitros), se agitó durante 1 hora a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/heptano), para dar la *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-azaespiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (174 miligramos, 0.28 milimoles), como un polvo color naranja. Una porción de este material se hizo progresar al Paso d, y el material restante se separó mediante cromatografía quiral (véase el Ejemplo 83).

Paso d: Una solución de la *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-azaespiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (54 miligramos, 0.096 mili-

moles), y HCl (4 M en dioxano, 0.239 mililitros, 0.96 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (1 mililitro), se agitó durante 30 minutos a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida. Este residuo se trituró con MeCN para dar la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina racémica (sal de HCl, 38 miligramos, 0.075 milimoles), como un polvo bronceado pálido. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.52-8.38 (m, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 7.50-7.43 (m, 2 H), 4.44 (dd, J = 21.0, 14.2 Hz, 2 H), 3.67 (dd, J = 15.1, 11.2 Hz, 1 H), 3.23-3.08 (m, 2 H), 2.47-2.34 (m, 2 H), 2.27 (dt, J = 14.6, 7.4 Hz, 1 H), 2.01-1.88 (m, 2 H), 1.75-1.54 (m, 3 H). HRMS calculada para $C_{19}H_{22}F_5N_6S$ $(M+H)^+$ 461.1547, encontrada 461.1540. La IC_{50} es 0.380 µM.

Ejemplo 83a/b

(R) y (S)-8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: La *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-

tio)-pirazin-2-il)-2,2-difluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (100 miligramos, 0.177 milimoles) se purificó adicionalmente mediante SFC quiral como sigue: columna: WHO-1 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: metanol al 45 por ciento y NH_4OH 5 mM en CO_2, detección: desencadenada por la masa para obtener los enantiómeros individuales; R_t (enantiómero *R*): 2.6 minutos (44 miligramos, 0.078 milimoles), y R_t (enantiómero *S*): 5.8 minutos (41 miligramos, 0.073 milimoles).

Paso b: Una mezcla del enantiómero puro y HCl (4 M en dioxano, 200 microlitros, 0.8 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2 mililitros) se agitó durante 1 hora a 40°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se trituró con MeCN para dar los compuestos del título como sales de HCl:

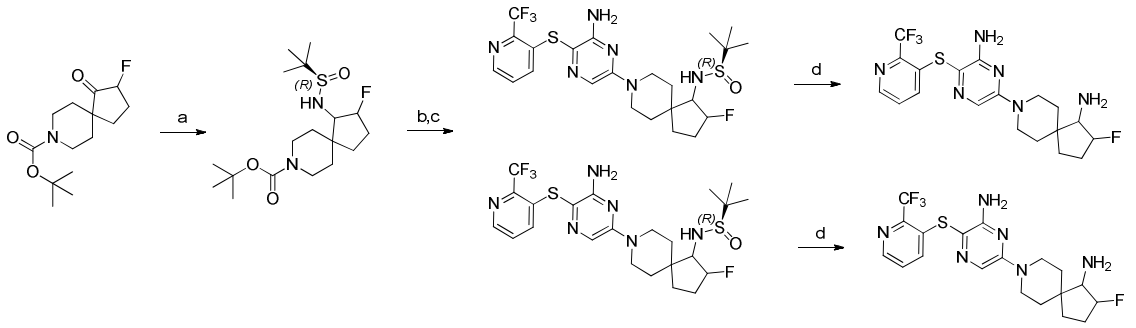
Enantiómero (R): ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.46 (dd, J = 3.7, 2.3 Hz, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 7.53-7.45 (m, 2 H), 4.52-4.36 (m, 2 H), 3.68 (dd, J = 15.0, 11.2 Hz, 1 H), 3.24-3.09 (m, 2 H), 2.47-2.34 (m, 2 H), 2.32-2.21 (m, 1 H), 2.05-1.90 (m, 2 H), 1.74-1.55 (m, 3 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ -66.19, -98.51 (d, J = 234.5 Hz), -101.83 (d, J = 234.6 Hz). HRMS calculada para $C_{19}H_{22}F_5N_6S$ $(M+H)^+$ 461.1547, encontrada 461.1540. La IC_{50} es de 0.882 µM.

Enantiómero (S): ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.50-8.41 (m, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.47 (m, 2 H), 4.52-4.35 (m, 2 H), 3.67 (dd, J = 15.1, 11.2 Hz, 1 H), 3.24-3.05 (m, 2 H), 2.49-2.32 (m, 2 H),

2.31-2.19 (m, 1 H), 2.02-1.88 (m, 2 H), 1.73-1.51 (m, 3 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ -66.24, -98.47 (d, J = 234.4 Hz), -101.77 (d, J = 234.6 Hz). HRMS calculada para $C_{19}H_{22}F_5N_6S$ $(M+H)^+$ 461.1547, encontrada 461.1541. La IC_{50} es de 0.306 μM.

Ejemplo 84

8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-fluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: Una solución del 2-fluoro-1-oxo-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo racémico (78 miligramos, 0.28 milimoles), etóxido de titanio(IV) (235 microlitros, 1.1 milimoles), y (*R*)-2-metil-propan-2-sulfinamida (68 miligramos, 0.56 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (1.5 mililitros), se agitó durante 1 hora a 90°C. Después de enfriarse a 0°C, se agregó borohidruro de litio (12 miligramos, 0.56 milimoles) en una porción. Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de metanol. Los volátiles se removieron bajo presión reducida. El residuo resultante se diluyó con salmuera, se extrajo con EtOAc (10 mililitros, 4 veces), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron bajo

presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 50 por ciento de EtOAc/heptano), para dar el 1-((*R*)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-fluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (64 miligramos, 0.17 milimoles). MS *m/z* 377.3 $(M+H)^+$.

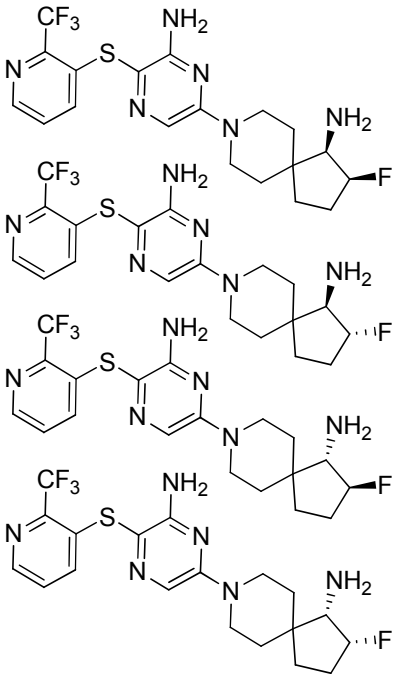
Paso b: Una mezcla del 1-((*R*)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-fluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (64 miligramos, 0.17 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (1 mililitro) en dicloro-metano (DCM) (4 mililitros), se agitó durante 10 minutos a 0°C. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

Paso c: Una mezcla del residuo anterior y 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (51 miligramos, 0.17 milimoles) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.3 mililitros), se agitó durante 2 horas a 100°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en sílice (gradiente del 0 al 10 por ciento de metanol (MeOH)/dicloro-metano (DCM) (que contenía Et_3N al 0.25 por ciento)), para dar la *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-fluoro-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida (41 miligramos, 0.075 milimoles). MS *m/z* 547.2 $(M+H)^+$ como una mezcla de diaestereómeros. La purificación adicional utilizando SFC quiral se llevó a cabo como sigue: columna: ID 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: iPrOH al 45 por ciento y

NH_4OH 10 mM en CO_2, detección: desencadenada por la masa para dar los enantiómeros individuales; R_t (P1) = 2.7 minutos (17 miligramos, 0.031 milimoles), y R_t (*enant*-P1) = 4.4 minutos (17 miligramos, 0.031 milimoles).

Paso d: Una solución de cada isómero puro y HCl (4 M en dioxano, 100 microlitros, 0.4 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (0.1 mililitros) se agitó durante 1 hora a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se trituró con MeCN, para dar los compuestos del título como sales de HCl.

Tabla 12

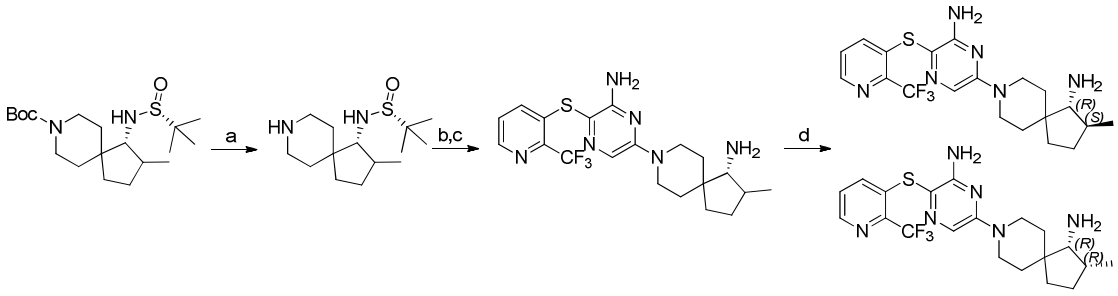
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
85		Sal de HCl. P1: ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.45 (dd, J = 3.7, 2.3 Hz, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.51-7.43 (m, 2 H), 5.31-5.08 (m, 1 H), 4.46 (t, J = 15.0 Hz, 2 H), 3.36 (d, J = 4.2 Hz, 1 H), 3.20-3.06 (m, 2 H), 2.28-	P1= 0.100 *enant*-P1= 0.113

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		2.06 (m, 3 H), 1.96-1.82 (m, 2 H), 1.74-1.50 (m, 3 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ -65.01, -66.44. HRMS calculada para $C_{19}H_{23}F_4N_6S$ $(M+H)^+$ 443.1641, encontrada 443.1642. Sal de HCl. *enant*-P1: ^1H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.48-8.44 (m, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 7.51-7.42 (m, 2 H), 5.30-5.10 (m, 1 H), 4.47 (t, J = 15.1 Hz, 2 H), 3.37-3.34 (m, 1 H), 3.21-3.06 (m, 2 H), 2.28-2.08 (m, 3 H), 1.95-1.82 (m, 2 H),	

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		1.76-1.47 (m, 3 H). ^{19}F RMN (376 MHz, METANOL-d_4) δ -65.01, -66.42. HRMS calculada para $C_{19}H_{23}F_4N_6S$ $(M+H)^+$ 443.1641, encontrada 443.1633.	

Ejemplo 86a/b

(1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina



Paso a: Una solución de (1*R*)-1-((R)-1,1-dimetil-etil-sulfinamido)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de terbutilo (32 miligramos, 0.086 milimoles), y ácido trifluoro-acético (TFA) (0.2 mililitros, 2.60 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2

mililitros), se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los volátiles se removieron bajo presión reducida, para dar (*R*)-2-metil-*N*-((1*R*)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida. MS *m/z* 273.0 $(M+H)^+$. El producto crudo se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

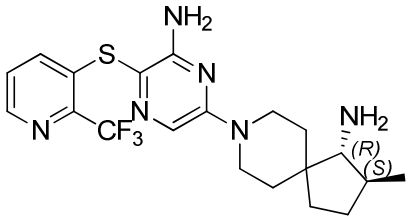
Paso b: Una mezcla de la (*R*)-2-metil-*N*-((1*R*)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-propan-2-sulfinamida (23 miligramos, 0.084 milimoles), 6-cloro-3-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-amina (23 miligramos, 0.075 milimoles), y NMP (0.1 mililitros) en di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1 mililitro), se agitó durante 6 horas a 115°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida para dar la (*R*)-*N*-((1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida como un aceite negro, el cual se utilizó en el siguiente paso sin purificación.

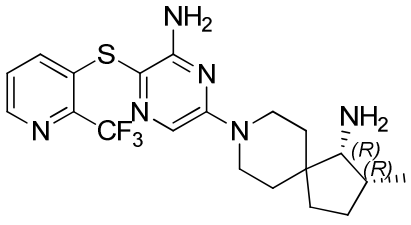
Paso c: Una mezcla de la (*R*)-*N*-((1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-il)-2-metil-propan-2-sulfinamida, y HCl (4M en dioxano, 84 microlitros, 0.338 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (2 mili-litros), se agitó durante 1 hora a 40°C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, los volátiles se removieron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó mediante HPLC (elución en gradiente del 35 al 60 por ciento de acetonitrilo en agua, modificador de ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento), para dar la 8-(6-amino-5-((2-(trifluoro-metil)-piridin-3-il)-tio)-pirazin-2-il)-2-

metil-8-aza-espiro-[4.5]-decan-1-amina, sal de ácido trifluoro-acético (TFA). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ 439.1892 $(M+H)^+$, encontrada 439.1872. La IC_{50} es 0.0010 µM.

Paso d: Separación quiral (véase la Tabla 13 para los detalles).

Tabla 13

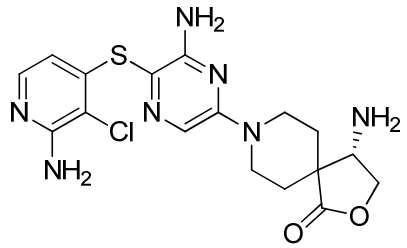
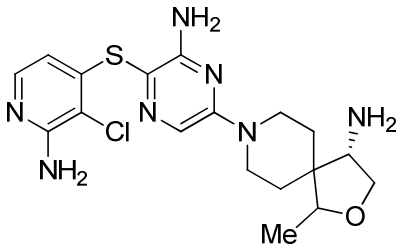
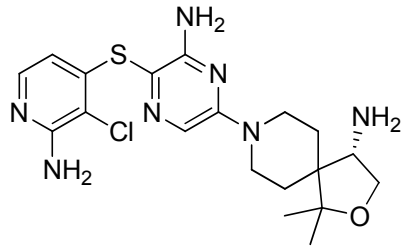
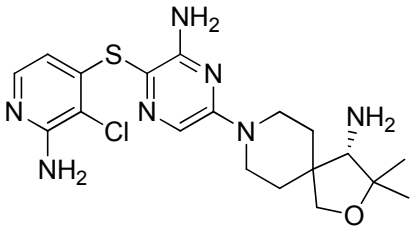
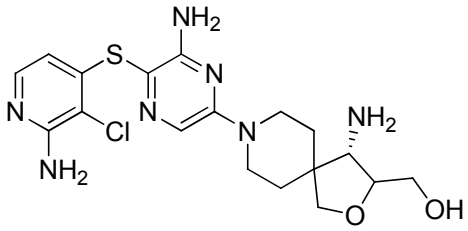
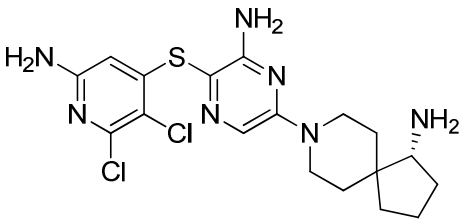
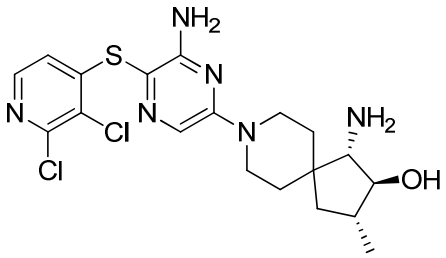
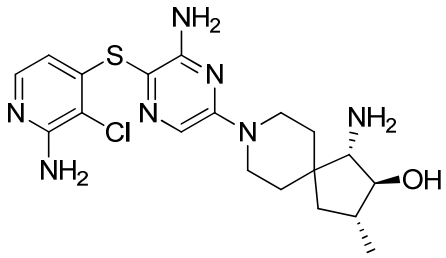
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (µM)
86a		Purificación mediante SFC quiral llevada a cabo como sigue: columna: ADH 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: metanol al 30 por ciento y NH_4OH 5 mM en CO_2, detección: 270 nanómetros UV para obtener un solo isómero R_t(P1) = 3.3 minutos. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.39 (dd, J = 4.4,	0.010

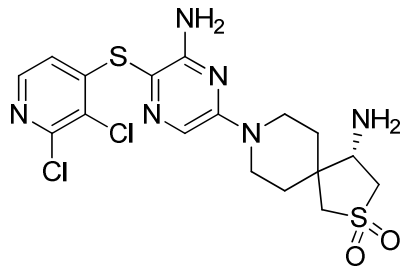
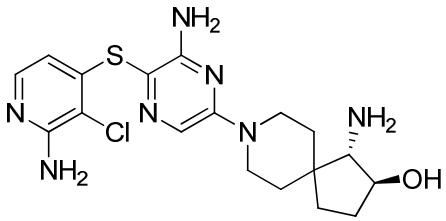
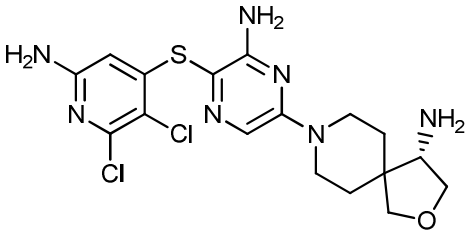
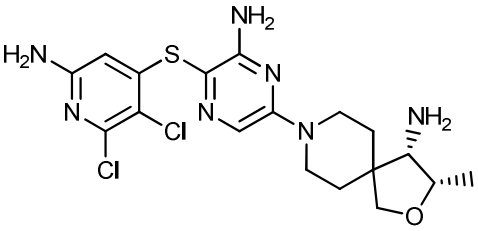
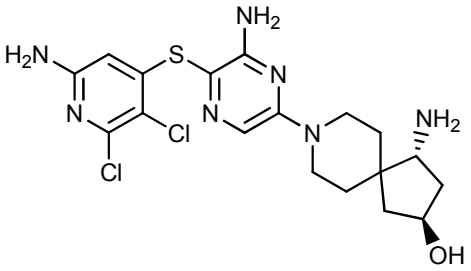
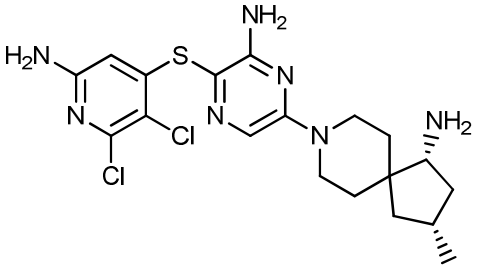
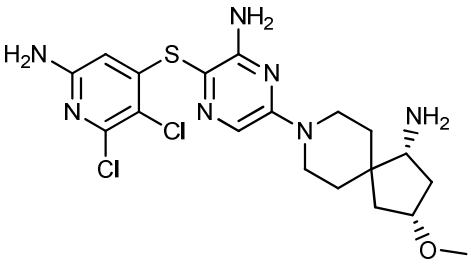
Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		1.6 Hz, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.47-7.35 (m, 2 H), 4.46-4.31 (m, 2 H), 3.15-2.95 (m, 2 H), 2.44 (d, J = 9.5 Hz, 1 H), 2.02-1.67 (m, 5 H), 1.61-1.36 (m, 4 H), 1.12 (d, J = 6.3 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ 439.1892 $(M+H)^+$, encontrada 439.1900.	
86b		Purificación mediante SFC quiral llevada a cabo como sigue: columna: ADH 21 x 250 milímetros, velocidad de flujo: 80 gramos por minuto, fase móvil: metanol al 30 por ciento y NH_4OH 5 mM en CO_2,	0.010

Ej.	Compuesto	Caracterización	IC_{50} (μM)
		detección: 270 nanómetros UV para obtener un solo isómero R_t(P2)= 4.3 minutos. ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8.38 (dd, J = 4.4, 1.6 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 7.49-7.31 (m, 2 H), 4.19-4.00 (m, 2 H), 3.29-3.12 (m, 2 H), 2.80 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 2.38-2.24 (m, 1 H), 1.91-1.47 (m, 8 H), 1.01 (d, J = 7.0 Hz, 3 H). HRMS calculada para $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ 439.1892 $(M+H)^+$, encontrada 439.1880.	

Los siguientes ejemplos de la Tabla 14 se pueden hacer utilizando los métodos anteriores y los materiales de partida apropiados:

Tabla 14

Ensayos

Los compuestos de la invención se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir selectivamente la actividad de SHP2. Las propiedades inhibidoras de los compuestos de la invención descrita en la presente pueden ser evidenciadas mediante la prueba de cualquiera de los siguientes ensayos.

Ensayo de inhibición aloestérica de SHP2

SHP2 se activa aloestéricamente a través del enlace de los péptidos bis-tirosil-fosforilados con sus dominios de Homología con Src 2 (SH2). Este último paso de activación conduce a la liberación de la interfase auto-inhibidora de SHP2, lo cual a su vez hace que se active la fosfatasa de tirosina de las proteínas (PTP) de SHP2 y que quede disponible para el reconocimiento del sustrato y la catalización de la reacción. La actividad catalítica de SHP2 se monitoreó utilizando el sustrato subrogado DiFMUP en un formato de ensayo de fluorescencia rápido.

De una manera más específica, las reacciones de fosfatasa se llevaron a cabo a temperatura ambiente en una placa de poliestireno negra de 384 pozos, de fondo plano, de pestaña baja, con superficie no enlazante (Corning, Cat # 3575), utilizando un volumen de reacción final de 25 microlitros, y las siguientes condiciones del regulador de ensayo: HEPES 60 mM, pH de 7.2, NaCl 75 mM, KCl 75 mM, EDTA 1 mM, P-20 al 0.05 por ciento, DTT 5 mM.

La inhibición de SHP2 mediante los compuestos de la invención (variando las concentraciones desde 0.003 hasta 100 μM) se

monitoreó utilizando un ensayo en donde se incubó 0.5 nM de SHP2 con 0.5 micras del péptido IRS1_pY1172(dPEG8)pY1222 (secuencia: H2N-LN(pY)IDLDLV(dPEG8)LST(pY)ASINFQK-amida). Después de 30 a 60 minutos de incubación a 25°C, se agregó a la reacción el sustrato subrogado DiFMUP (Invitrogen, cat # D6567), y se incubó a 25°C durante 30 minutos. La reacción entonces se apagó mediante la adición de 5 microlitros de una solución 160 µM de bpV(Fen) (Enzo Life Sciences cat # ALX-270-204). La señal de fluorescencia se monitoreó utilizando un lector de microplacas (Envision, Perkin-Elmer), utilizando longitudes de onda de excitación y emisión de 340 nanómetros y 450 nanómetros, respectivamente. Las curvas de respuesta a la dosis del inhibidor se analizaron utilizando el ajuste de curva de regresión de IC_{50} normalizada con la normalización basada en el control. Los resultados de IC_{50} para los compuestos de la invención se muestran en los Ejemplos y en las Tablas 1 a 7, anteriormente.

Ensayo celular de p-ERK

Ensayo celular de p-ERK utilizando el Kit AlphaScreen® SureFire^{MR} Phospho-ERK 1/2 (PerkinElmer): Se cultivaron células KYSE-520 (30,000 células/pozo) en una placa de cultivo de 96 pozos durante la noche, y se trataron con los inhibidores de SPH2 en concentraciones de 20, 6.6, 2.2, 0.74, 0.24,0.08, 0.027 µM durante 2 horas a 37°C. Las incubaciones se terminaron mediante la adición de 30 microlitros de regulador de lisis (PerkinElmer) suministrado con el kit de ensayo de cinasa regulada por la señal fosfo-extracelular

(pERK) SureFire (PerkinElmer). Las muestras se procesaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La señal de fluorescencia a partir de pERK se midió por duplicado utilizando un lector de múltiples marcas 2101 (Perkin Elmer Envision). El porcentaje de inhibición se normalizó mediante la señal total de ERK, y se comparó con el control de vehículo de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Ensayo de formación de colonias y ensayo de proliferación celular

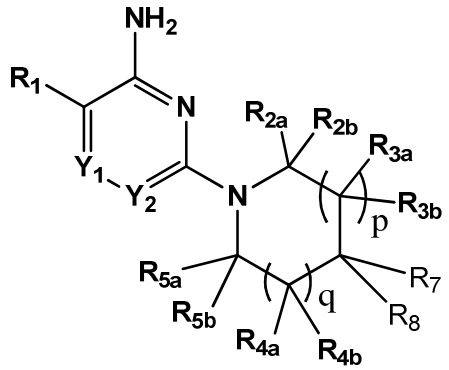
Las células KYSE-520 (1,500 células/pozo) se emplacaron en placas de 24 pozos en 300 microlitros del medio (RPMI-1640 que contenía suero bovino fetal al 10 por ciento, Lonza). Para el tratamiento con fármaco, se agregaron los compuestos de la invención en diferentes concentraciones (20, 10, 5, 2.5, 1.25 μM) a las 24 horas y 5 días después del emplacado de las células. En el día 11, las colonias se tiñeron con violeta cristal al 0.2 por ciento (MP Biomedicals), y subsiguientemente se disolvieron en ácido acético al 20 por ciento para la cuantificación, utilizando un lector Spectramax (Thermo Scientific). En el ensayo de proliferación celular, las células (1,500 células/pozo) se emplacaron en placas de 96 pozos en 100 microlitros del medio (RPMI-1640 que contenía suero bovino fetal al 10 por ciento, Lonza). En el día 6, se agregaron 50 microlitros del reactivo Celltiter-Glo (Promega), y la señal luminiscente se determinó de acuerdo con las instrucciones del proveedor (Promega).

Se entiende que los Ejemplos y modalidades descritos en la

presente son para propósitos ilustrativos solamente y que serán sugeridas diferentes modificaciones o cambios a la luz de los mismos para las personas expertas en la materia, y se deben incluir dentro del espíritu y alcance de esta solicitud y dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I:



I

en donde:

p se selecciona a partir de 0 y 1;

q se selecciona a partir de 0 y 1;

Y_1 se selecciona a partir de CH y N;

Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N;

R_1 es $–XR_{1a}$; en donde R_{1a} se selecciona a partir de arilo de 6 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, cicloalquenilo de 3 a 8 átomos de carbono y un grupo heteroarilo de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, C(O), O y S; en donde este arilo o heteroarilo de R_{1a} está sustituido con 1 a 5 grupos R_9 independientemente seleccionados a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, dimetil-amino, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono

sustituido por hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$; y X se selecciona a partir de un enlace, $S(O)_m$, O, C(O), COR_{11}, $CR_{10a}R_{10b}$, NR_{11}; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; cada R_{10a} y R_{10b} se selecciona independientemente a partir de halógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y R_{11} se selecciona a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_{2a} y R_{2b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{3a} y R_{3b} se seleccionan independientemente a partir de halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{4a} y R_{4b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo

de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

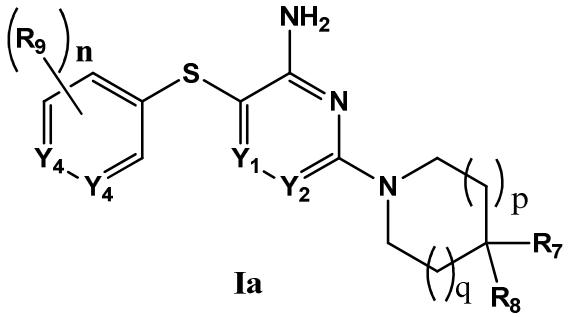
en donde cualesquiera dos grupos seleccionados a partir de R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b} y R_7 pueden formar un anillo de 5 a 6 miembros insaturado o parcialmente saturado;

R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino-carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-S(O)_{1-2}R_{6a}$, $-C(S)R_{6a}$, $-C(O)NR_{6a}R_{6b}$, $-C(NH)NR_{6a}R_{6b}$ y $-NR_{6a}C(O)R_{6b}$; en donde R_{6a} y R_{6b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente de 1 a 3 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, C(O), O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente a partir de amino, hidroxilo, metoxilo, halógeno, metilo, metil-amino e isobutiriloxilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 de la fórmula Ia:



Ia

en donde:

n se selecciona a partir de 1, 2, 3 y 4;

p se selecciona a partir de 0 y 1;

q se selecciona a partir de 0 y 1;

Y_1 se selecciona a partir de CH y N;

Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N;

cada Y_4 se selecciona independientemente a partir de N, C(O), y CR_9; en donde solamente un Y_4 es C(O);

R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, metilo y amino-carbonilo;

R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con 1 a 3

grupos independientemente seleccionados a partir de amino, halógeno, hidroxilo, amino-metilo y metil-amino;

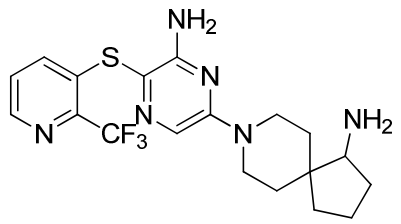
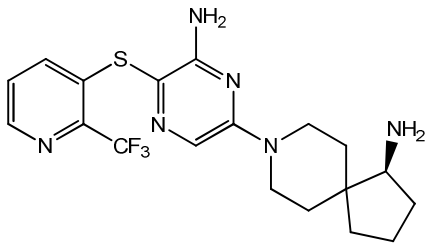
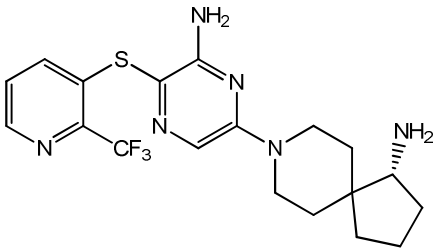
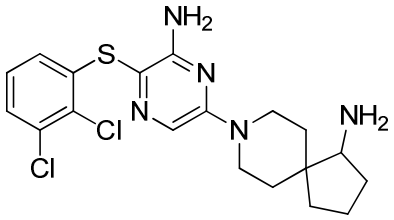
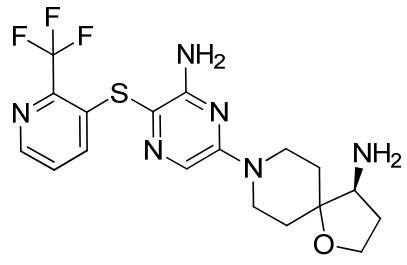
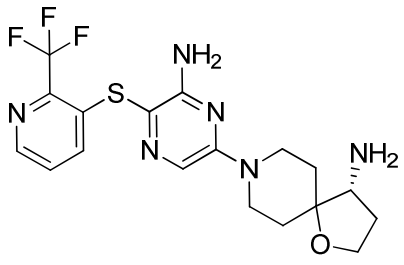
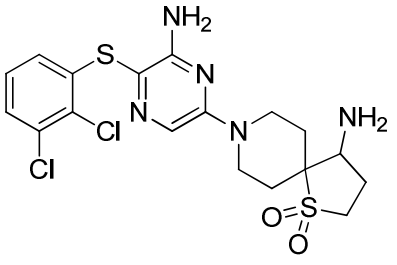
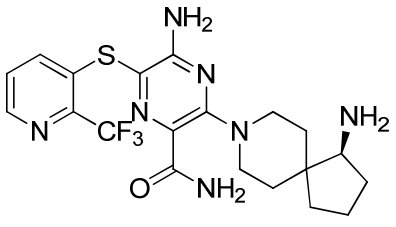
R_9 se selecciona a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, dimetil-amino, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$;

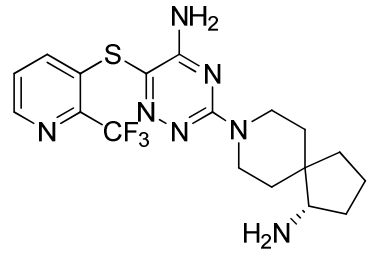
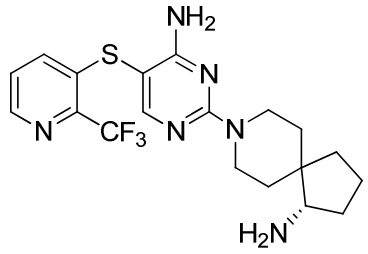
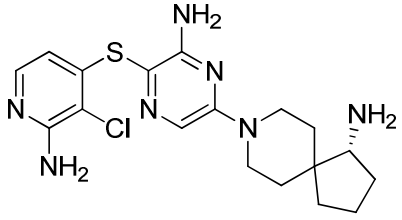
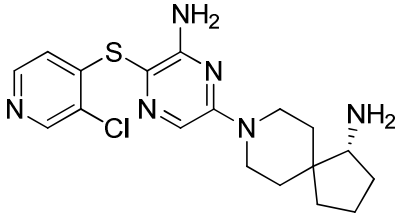
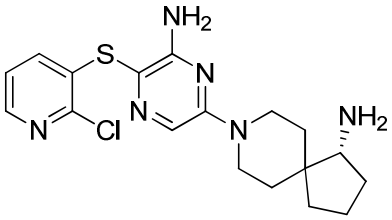
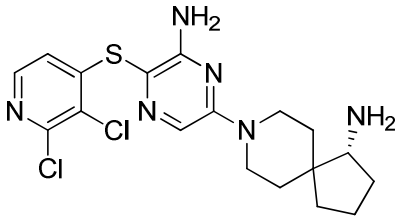
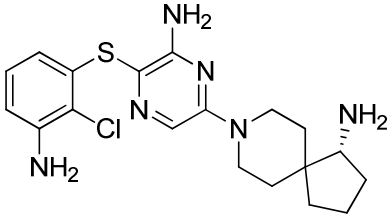
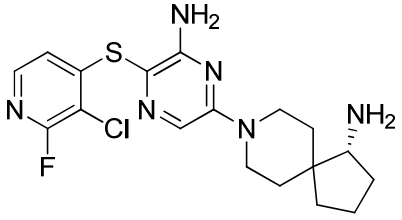
R_{10} se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde el fenilo de R_{10} está insustituido o sustituido con metoxilo;

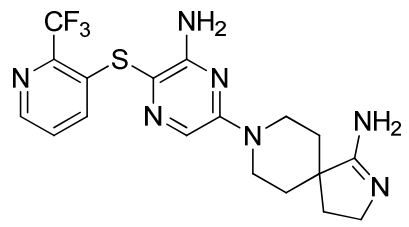
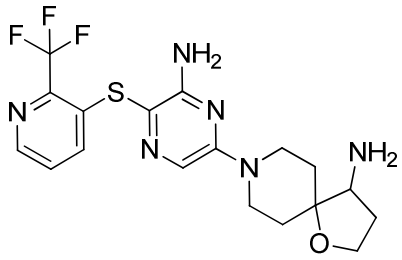
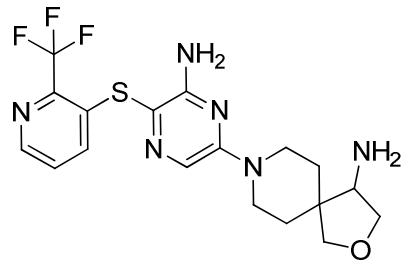
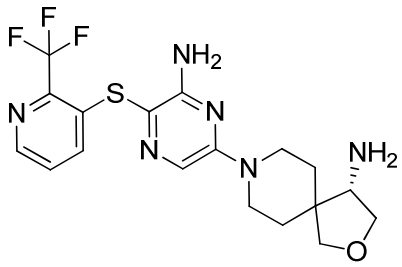
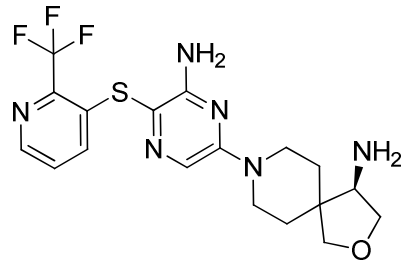
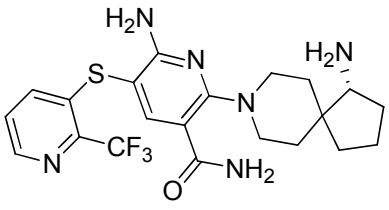
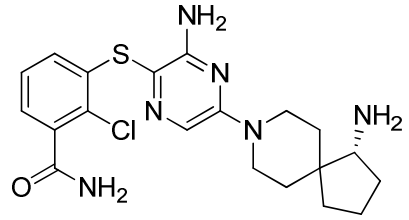
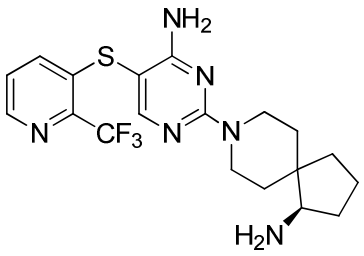
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

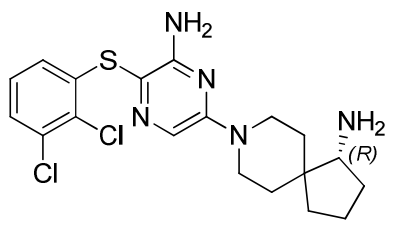
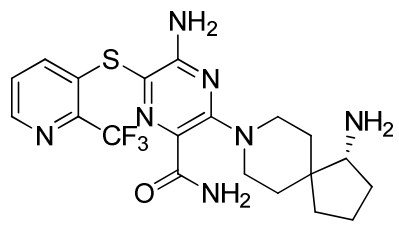
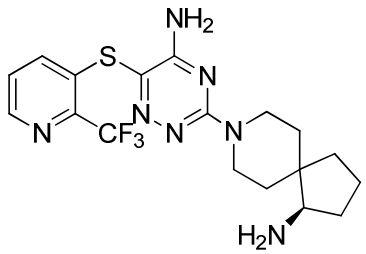
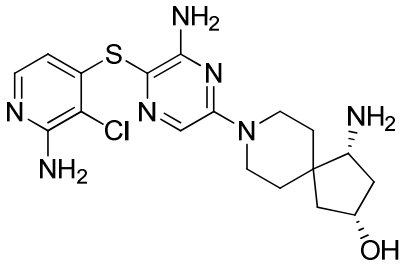
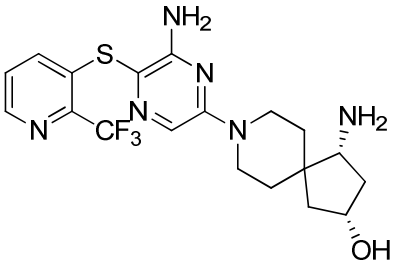
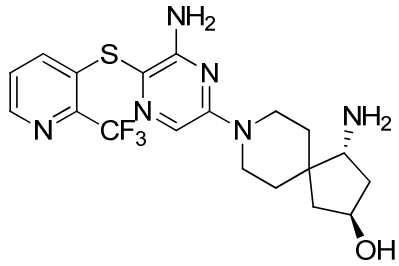
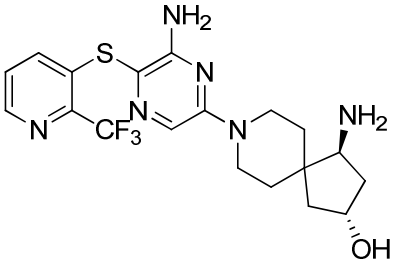
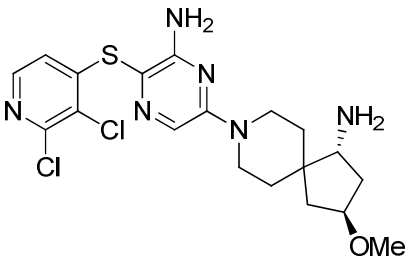
3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 5 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente de 1 a 2 heteroátomos o grupos independientemente seleccionados a partir de N, O, C(O), y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con 1 a 3 grupos independientemente seleccionados a partir de amino, hidroxilo, metoxilo, halógeno, metilo, metil-amino e isobutiriloxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

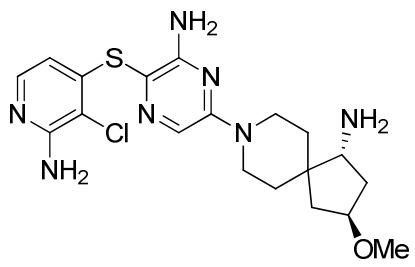
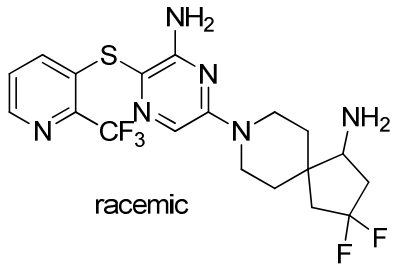
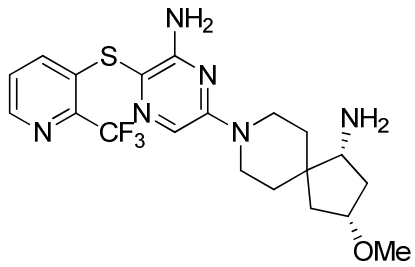
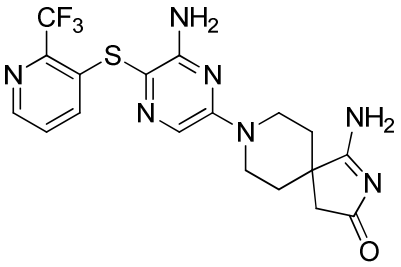
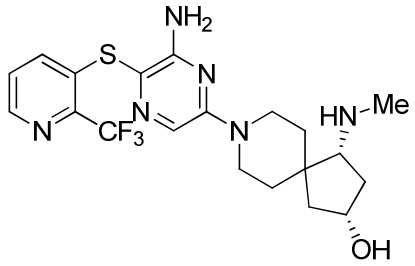
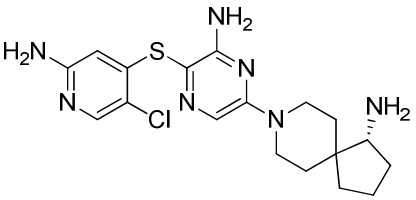
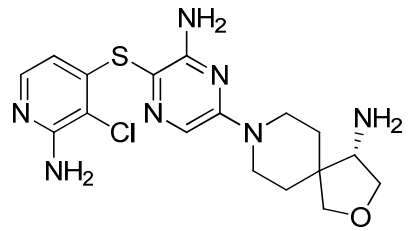
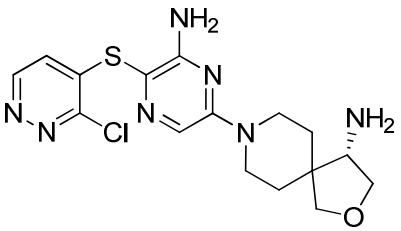
4. El compuesto de la reivindicación 3, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

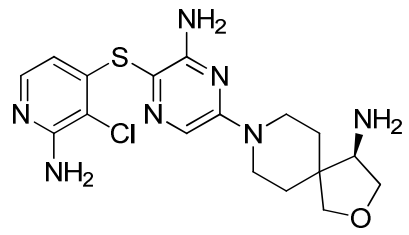
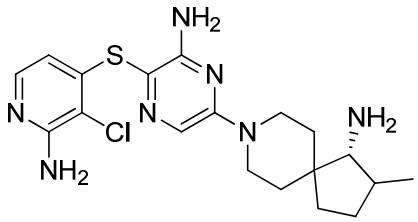
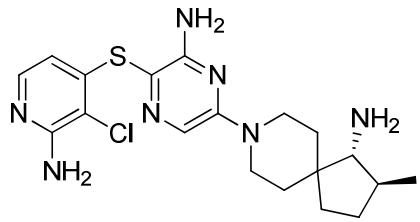
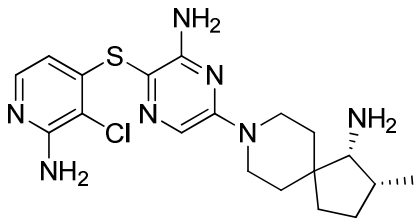
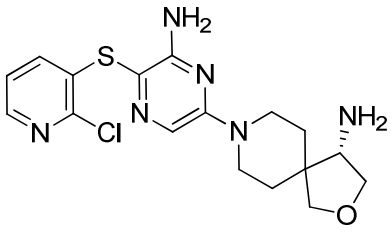
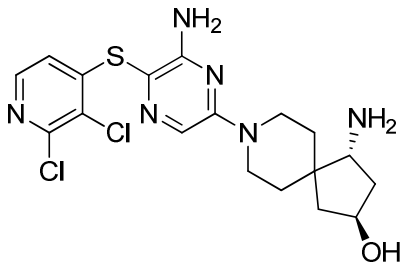
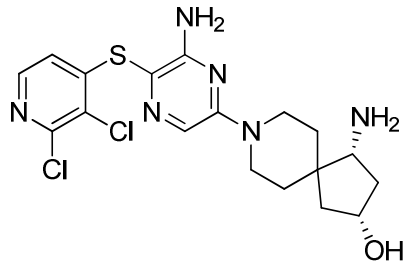
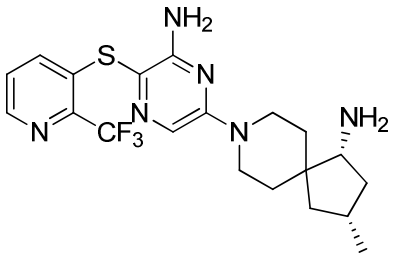
	
	
	
	

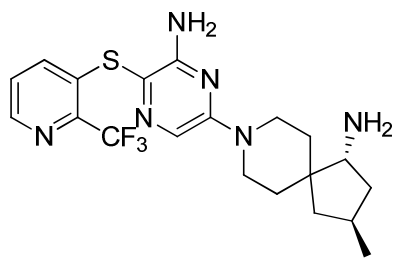
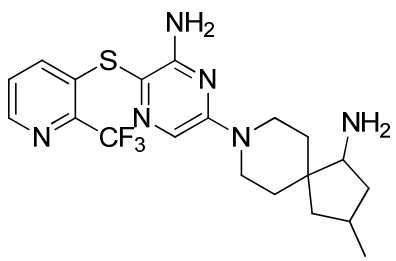
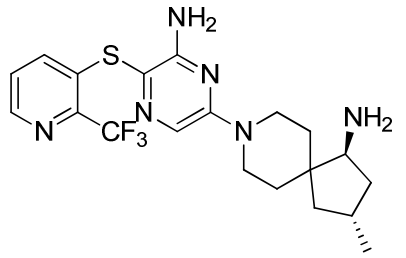
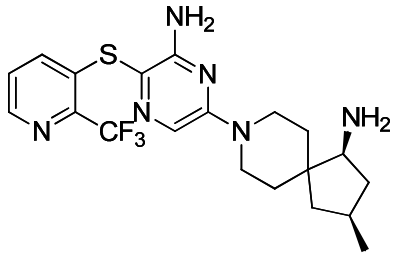
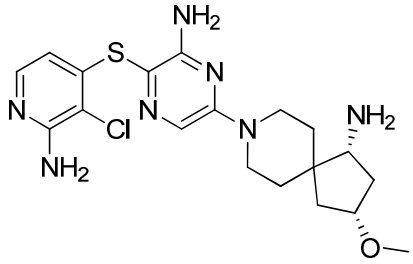
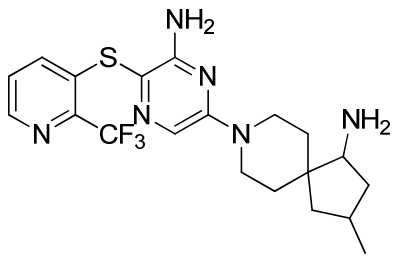
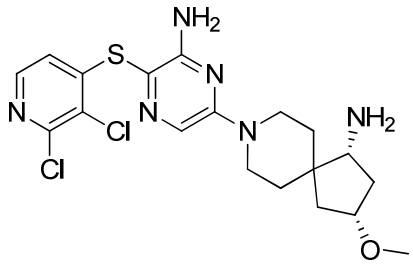
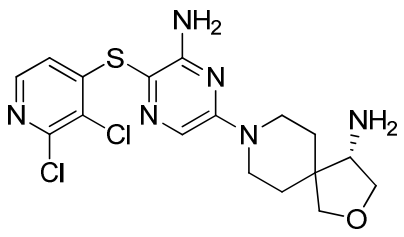
	
	
	
	

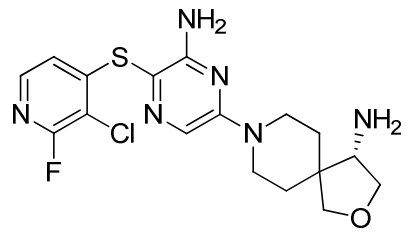
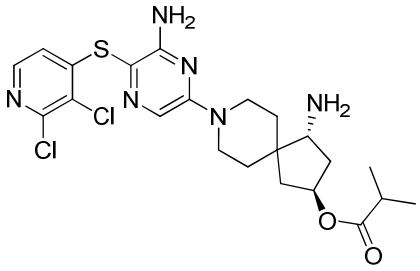
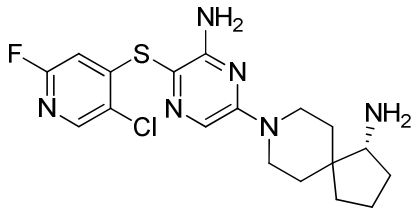
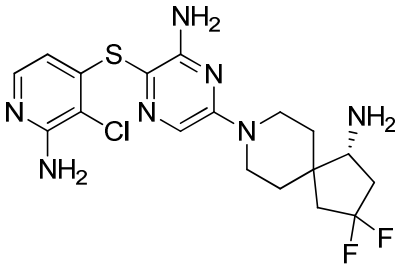
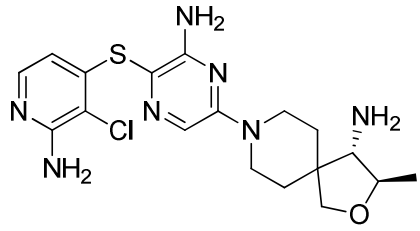
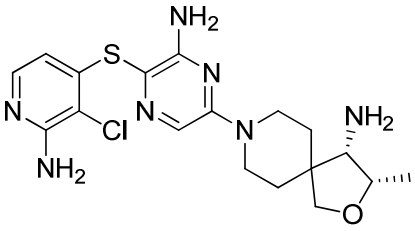
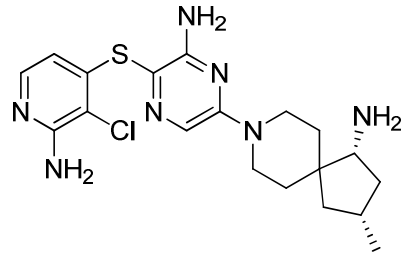
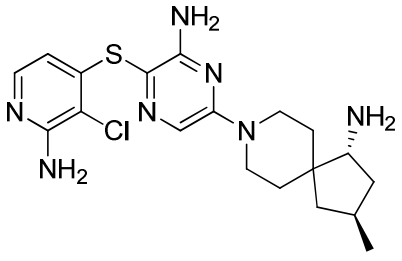
	
	
	
	

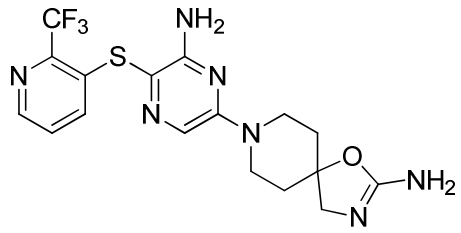
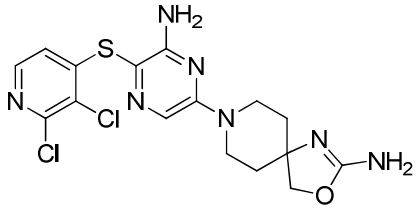
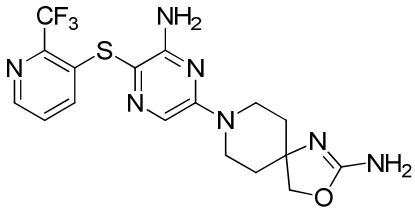
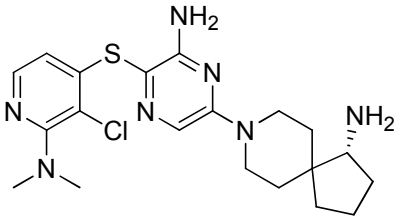
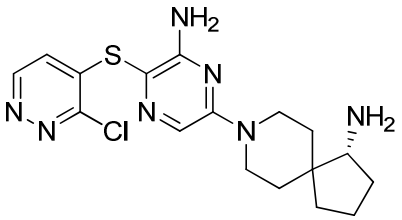
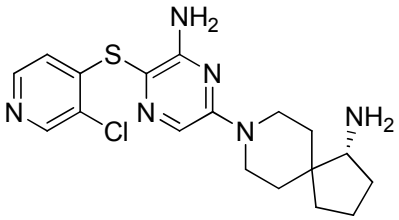
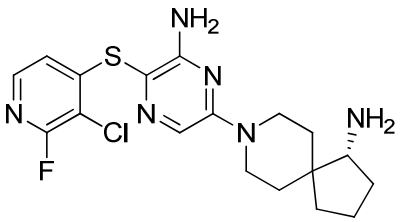
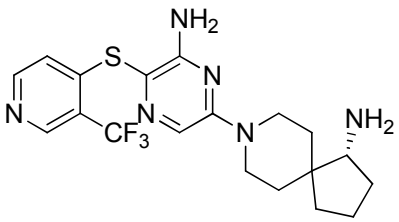
	
	
	
	

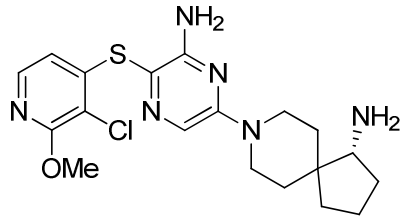
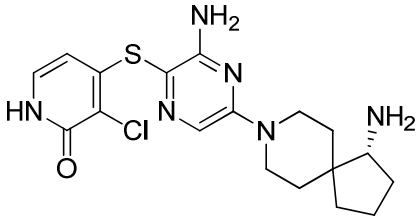
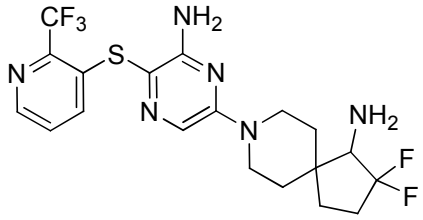
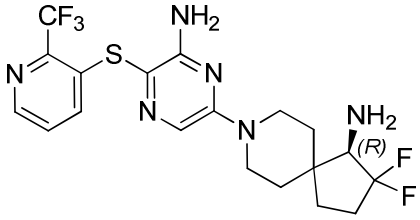
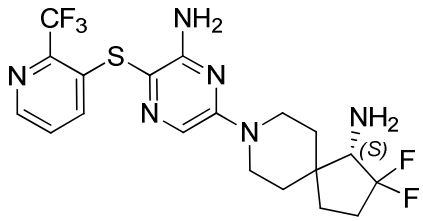
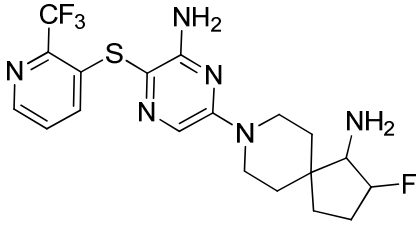
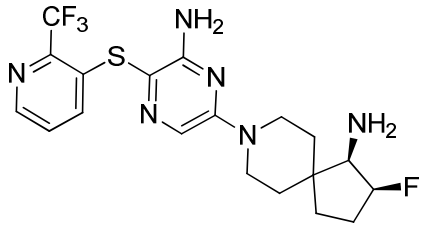
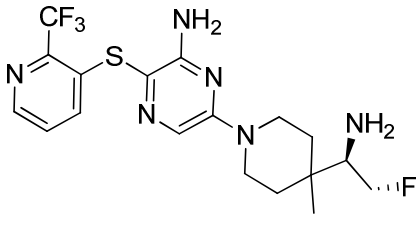
	
	
	
	

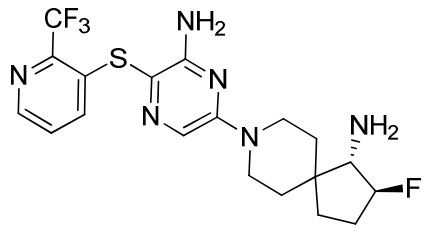
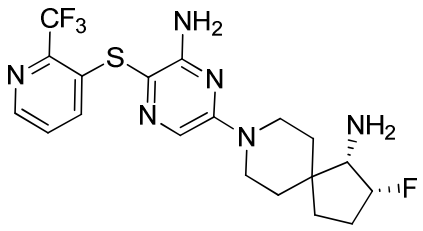
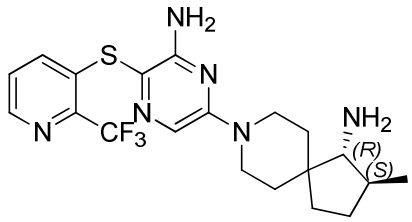
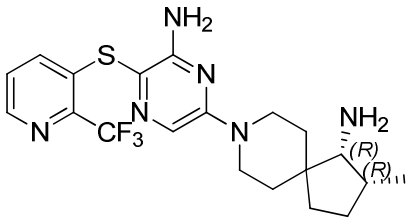
	
	
	
	

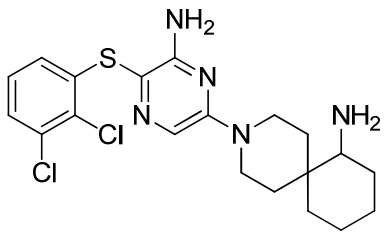
	
	
	
	

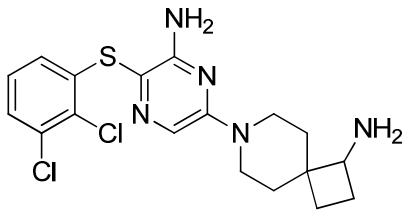
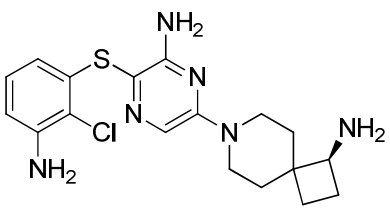
5. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 6 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con amino; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

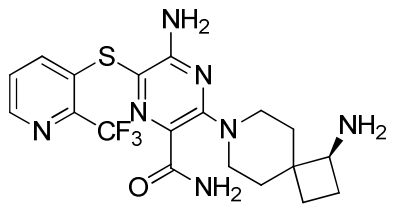
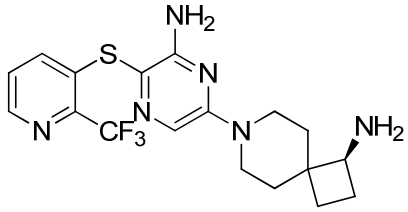
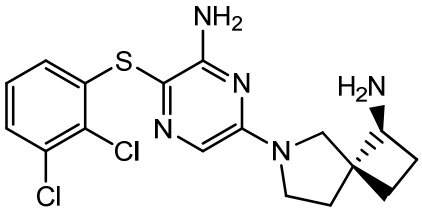
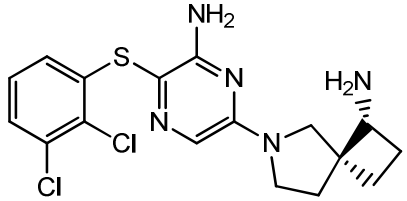
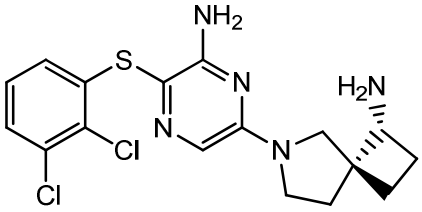
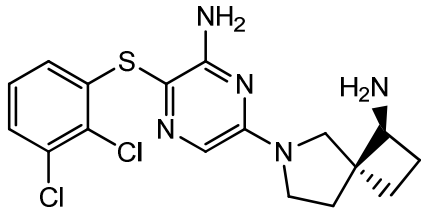
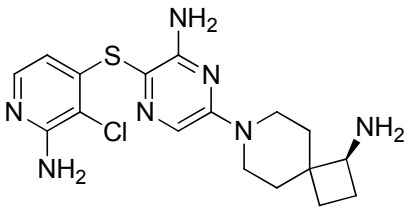
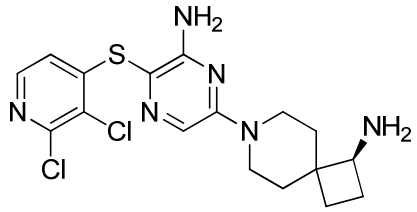
6. El compuesto de la reivindicación 5, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

7. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 4 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

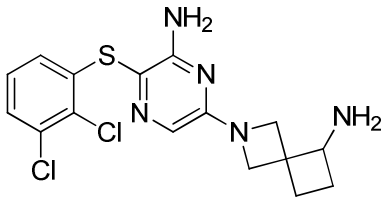
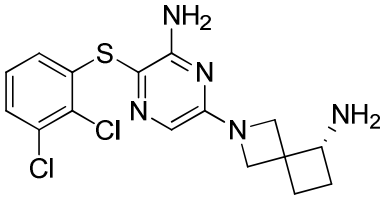
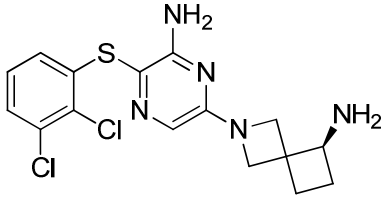
8. El compuesto de la reivindicación 7, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

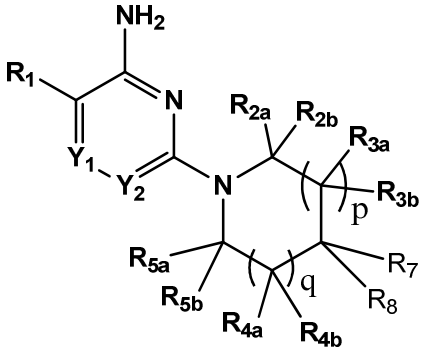
	
	
	
	

9. El compuesto de la reivindicación 2, en donde p y q son ambos 0; o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto de la reivindicación 9, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

11. El compuesto de la reivindicación 1 de la fórmula II:



II

en donde:

p se selecciona a partir de 0 y 1;

q se selecciona a partir de 0 y 1;

Y_1 se selecciona a partir de CH y N;

Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N;

R_1 se selecciona a partir de arilo de 6 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, cicloalquenilo de 3 a 8 átomos de carbono y un grupo heteroarilo de 5 a 9 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S; en donde este arilo o heteroarilo de R_{1a} está sustituido con 1 a 5 grupos R_9 independientemente seleccionados a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; cada R_{10a} y R_{10b} se selecciona independientemente a partir de halógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y R_{11} se selecciona a partir de hidrógeno y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R_{2a} y R_{2b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{3a} y R_{3b} se seleccionan independientemente a partir

de halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{4a} y R_{4b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, halógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

R_{5a} y R_{5b} se seleccionan independientemente a partir de hidrógeno, carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino, hidroxilo, cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono-amino;

en donde cualesquiera dos grupos seleccionados a partir de R_{2a}, R_{3a}, R_4, R_5, R_{6a} y R_{7a} pueden formar un anillo de 5 a 6 miembros insaturado o parcialmente insaturado;

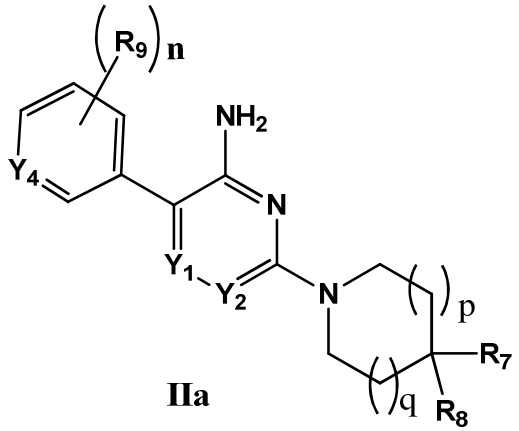
R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, amino-carbonilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por amino;

R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que

están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con 1 a 3 grupos independientemente seleccionados a partir de amino, halógeno, hidroxilo, amino-metilo y metil-amino;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

12. El compuesto de la reivindicación 11 de la fórmula IIa:



IIa

en donde:

n se selecciona a partir de 1, 2, 3 y 4;

p se selecciona a partir de 0 y 1;

q se selecciona a partir de 0 y 1;

Y_1 se selecciona a partir de CH y N;

Y_2 se selecciona a partir de CR_6 y N;

Y_4 se selecciona a partir de N y CR_9;

R_6 se selecciona a partir de hidrógeno, halógeno,

metilo y amino-carbonilo;

R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 3 a 7 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 puede estar insustituido o sustituido con un grupo seleccionado a partir de amino, amino-metilo y metil-amino;

R_9 se selecciona a partir de halógeno, amino, hidroxilo, N_3, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido por halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, $-C(O)OR_{10}$ y $-NHC(O)R_{10}$;

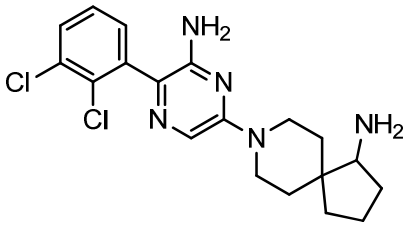
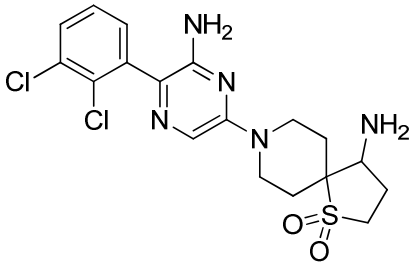
R_{10} se selecciona a partir de hidrógeno, fenilo y naftilo; en donde el fenilo de R_{10} está insustituido o sustituido con metoxilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. El compuesto de la reivindicación 12, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo de 5 miembros saturado o parcialmente insaturado que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con amino; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

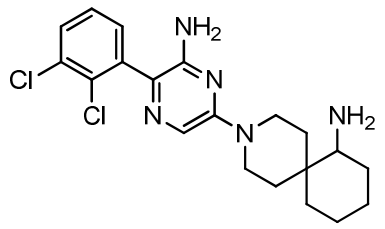
14. El compuesto de la reivindicación 13, o la sal

farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

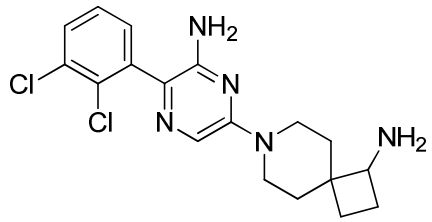
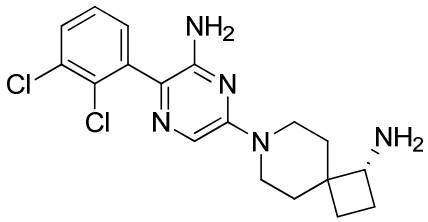
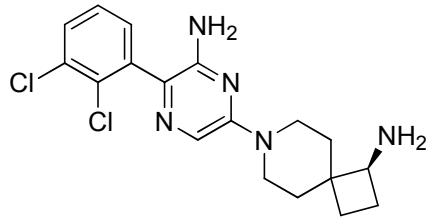
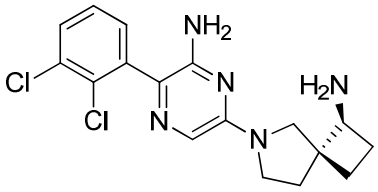
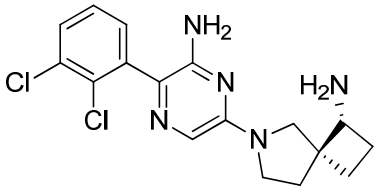
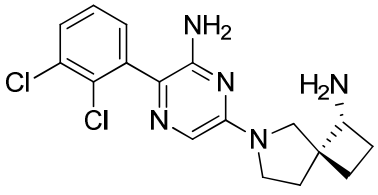
15. El compuesto de la reivindicación 12, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo saturado de 6 miembros que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con amino; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

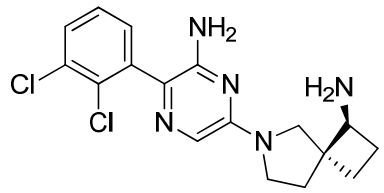
16. El compuesto de la reivindicación 15, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

17. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R_7 y R_8 junto con el átomo de carbono con el que están ambos unidos, forman un anillo saturado de 4 miembros que puede contener opcionalmente un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S(O)m; en donde m se selecciona a partir de 0, 1 y 2; en donde el anillo saturado formado por R_7 y R_8 está sustituido con amino; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

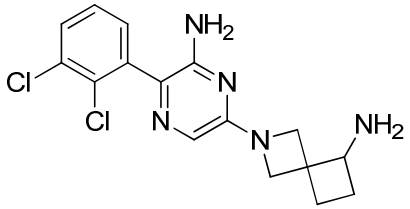
18. El compuesto de la reivindicación 17, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

19. El compuesto de la reivindicación 12, en donde p y q son ambos 0; o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20. El compuesto de la reivindicación 19, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado a partir de:

21. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

22. Un método de tratamiento, el cual comprende administrar un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a una persona que necesite dicho tratamiento, en una cantidad efectiva para el

tratamiento profiláctico o terapéutico de una enfermedad o de un trastorno, el cual sea mediado por la actividad de SHP2.

23. El método de la reivindicación 22, en donde la enfermedad o el trastorno mediado por la actividad de SHP2 se selecciona a partir de síndrome de Noonan, síndrome de Leopard, leucemias mielomonocíticas juveniles, neuroblastoma, melanoma, leucemia mieloide aguda, cáncer de mama, cáncer esofágico, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de cabeza, neuroblastoma, carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas, carcinoma gástrico, linfoma macrocelular anaplásico y glioblastoma.