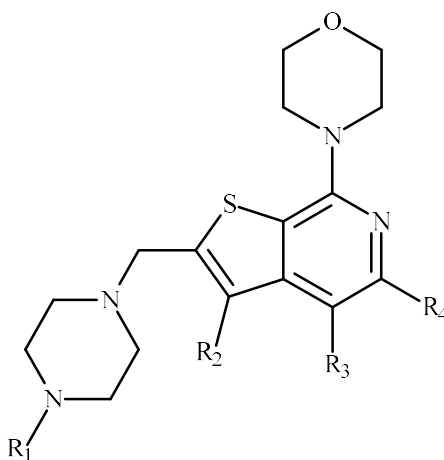


DERIVADOS DE 7-(MORFOLINIL)-2-(N-PIPERAZINIL) METIL TIENO [2, 3-C] PIRIDINA COMO MEDICAMENTOS CONTRA EL CÁNCER

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metil tieno [2, 3-c] piridinas sustituidas novedosas útiles en el tratamiento de varios tipos de cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer del páncreas, cáncer de próstata y similares. La presente invención proporciona una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metil tieno [2, 3-c] piridinas sustituidas de fórmula I, o una sal
- 10 farmacéuticamente aceptable de las mismas,



Fórmula I

En donde

- R1 puede ser -H, alquilo -C1 –C6, cicloalquilo -C3 –C6, -C(O)R5, -S(O)₂R5, -C(O)₂R5,
- 15 alquilo -C1 –C6 sustituido con R6, cicloalquilo -C3 –C6 sustituido con R6, -arilo, -arilo sustituido con R6, -heteroarilo sustituido con R6, etc.

- R2, R3 y R4 pueden ser independientemente grupos -H, -OH, -SH, -halo, -amino, -ciano, nitro, -alquilo C1-C6, cicloalquilo C3-C6, -arilo, -alcoxi inferior, -C(O)R5, -S(O)₂R5, -
- 20 C(O)₂R5, -C=C-R6, -aminocarbonilo sustituido con R6, grupo -alquilamino sustituido con R6 o que contiene opcionalmente -cicloalquilo C3-C6, alquilaminocarbonilo, -arilaminocarbonilo, heteroarilo, heteroarilo sustituido opcionalmente sustituido con H, amino, aminoalquilo o aminocicloalquilo que contiene átomos de carbono C3-C6,

heteroarilo bicíclico o tricíclico fusionado que contiene 1,2 o 3 heteroátomos tales como N, O, S, grupo arilo sustituido opcionalmente sustituido con cualquiera de hidroxilo, alquilo hidroxilo, amino, aminoalquilo, amino carbonilo, alquinilo, ciano, halógeno, alcoxi inferior, o ariloxi, u opcionalmente sustituido con R6 etc.

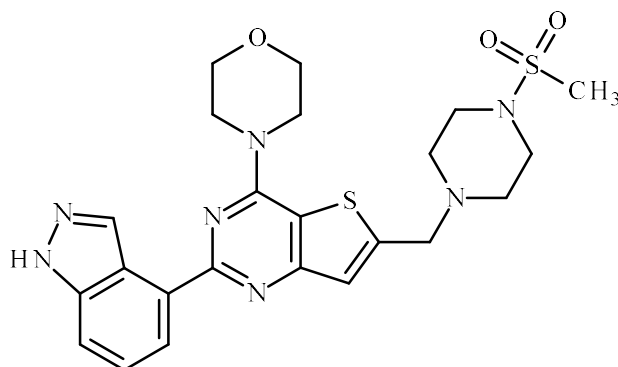
5

R5 puede ser -H, -alquilo, amino, -aminoalquilo, -N(alq)₂, -arilo sustituido con R6, heteroarilo sustituido con R6, -heteroarilo fusionado sustituido con R6, trifluorometilo, etc.

- 10 R6 se puede seleccionar entre -H, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, amino, -alquilo C1-C6, -N(alq)₂ -alquilo (CH)₀₋₆ sustituido, arilo opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido, un aralquilo opcionalmente sustituido, un arilo (hidroxilo) alquilo, un acilamino aromático, un arilsulfonilamino, un alcoxil-aril-sulfonilamino inferior, un hidroxilo alcoxilo inferior estirilo, ariloxi alcoxil inferior, un arilalquenilo
- 15 opcionalmente sustituido, heteroarilalquenilo, heteroarilalquinilo, acilalquinilo aromático, amino alquilo inferior opcionalmente N-sustituido, arilamino, arilalquilamino, etc.

Antecedentes de la invención

- La solicitud PCT WO 2007/122410 se refiere a ciertos compuestos de tieno [2, 3-c] pirimidina que funcionan con el mecanismo PI3 quinasa y son útiles para el tratamiento de diversos trastornos proliferativos del cerebro, mama, pulmón, etc. La estructura del compuesto principal GDC-0941, ahora denominado Pictilisib, se presenta a continuación:
- 20



Pictilisib

Ciertas tieno [2,3 - c] piridinas como quinasas PI3

WO2009071901A1 describe una clase de triazol tricíclico fusionado y derivados de tiofeno como inhibidores de PI3 quinasa que son beneficiosos en el tratamiento de trastornos inflamatorios, autoinmunes, cardiovasculares, neurodegenerativos, metabólicos, oncológicos, nociceptivos u oftálmicos.

La **solicitud de patente de EE.UU. no. 20090247567A1**, describe ciertas tieno [2,3-c] piridinas, benzopirano fusionado y benzoxipeno fusionado como inhibidores de PI3 quinasa.

US8653089 describe una preparación de compuestos heterocíclicos como inhibidores selectivos de las isoformas p110 delta de PI3 quinasa para tratar la inflamación, las enfermedades inmunes y ciertas formas de cáncer.

Tieno [2,3-c] piridinas para otras aplicaciones

US3579526A describe una serie de compuestos de tienopiridinas como intermediarios para colorantes, insecticidas, herbicidas, pesticidas y aditivos para aceites lubricantes.

GB2010249A describe ciertas tieno [2,3-c] – [3.2-c] piridinas y sus aplicaciones terapéuticas como inhibidores de inflamación.

GB2031428A describe nuevos derivados de tieno [2,3-c] piridina y sus aplicaciones terapéuticas como compuestos antiinflamatorios.

EP0292051A2 describe la preparación de 2-[(tienopiridinilmetil)tio] bencimidazoles como agentes antiulcerosos. Estos derivados de benzimidazol y tienopiridina son excelentes agentes antiulcerosos.

WO2000075145A1 y **US6232320** describen la preparación de tienopiridinas y tienopirimidinas como compuestos antiinflamatorios inhibidores de la adhesión celular.

WO2005110410A2 describe la preparación de heterocíclicos fusionados como inhibidores de quinasa. Esta invención proporciona compuestos o sales farmacéuticamente aceptables como inhibidores de quinasas, particularmente quinasas COT o MK2.

La presente invención

El objetivo principal de la presente invención es proporcionar una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil) metil tieno [2, 3-c] piridinas sustituidas novedosas de la fórmula general I definida anteriormente, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metiltieno[2,3-c] piridinas sustituidas novedosas de la fórmula general I definida anteriormente y sus sales farmacéuticamente aceptables que son inhibidores potentes y selectivos de PI3 quinasa y por lo tanto son beneficiosos en el tratamiento y la prevención de diversas enfermedades humanas, como el cáncer.

Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metiltieno [2,3-c] piridinas sustituidas novedosas de la fórmula general I definida anteriormente y sus sales farmacéuticamente aceptables con excelente actividad in vivo contra tumores sólidos como los pulmonares, pancreáticos, etc.

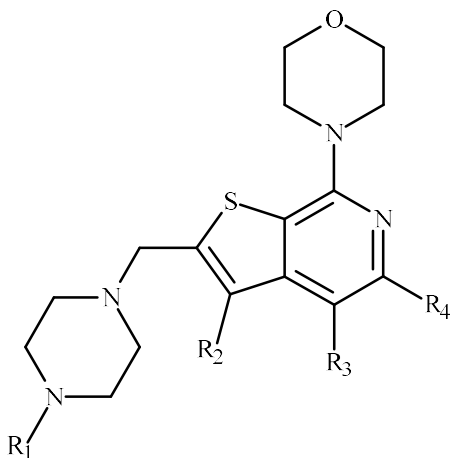
Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un proceso para preparar una serie de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metiltieno [2, 3-c] piridinas sustituidas novedosas de la fórmula general I definida anteriormente y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Descripción detallada de la invención

Los compuestos de acuerdo con la presente invención, al ser inhibidores potentes y selectivos de PI3 quinasa, son beneficiosos en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades humanas, como el cáncer.

La presente invención hace referencia a compuestos de fórmula-I y sus sales farmacéuticamente aceptables, que pueden ser preparados por medio de cualquier proceso conocido por ser aplicable a los compuestos químicamente relacionados.

- 5 La invención hace referencia a 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil) metil tieno [2, 3-c] piridinas sustituidas de fórmula-I,



(I)

En donde

- 10 R1 puede ser -H, alquilo -C1 -C6, cicloalquilo -C3 -C6, -C(O)R5, -S(O)₂R5, -C(O)₂R5, alquilo -C1 -C6 sustituido con R6, cicloalquilo -C3 -C6 sustituido con R6, -arilo, -arilo sustituido con R6, grupos -heteroarilo sustituido con R6, etc.

- R2, R3 y R4 pueden ser independientemente grupos -H, -OH, -SH, -halo, -amino, -ciano, 15 nitro, -alquilo C1-C6, cicloalquilo C3-C6, -arilo, -alcoxi inferior, -C(O)R5, -C(O)R5, -S(O)₂R5, -C(O)₂R5, -C=C-R6, -aminocarbonilo sustituido con R6, grupo -alquilamino sustituido con R6 o que contiene opcionalmente -cicloalquilo C3-C6, alquilaminocarbonilo, -arilaminocarbonilo, heteroarilo, heteroarilo sustituido opcionalmente sustituido con H, amino, aminoalquilo o aminocicloalquilo que contiene 20 átomos de carbono C3-C6, heteroarilo bicíclico o tricíclico fusionado que contiene 1,2 o 3 heteroátomos tales como N, O, S, grupo arilo sustituido opcionalmente sustituido con

cualquiera de hidroxilo, alquilo hidroxilo, amino, aminoalquilo, amino carbonilo, alquinilo, ciano, halógeno, alcoxi inferior, o ariloxi, u opcionalmente sustituido con R6 etc.

- 5 R5 puede ser -H, -alquilo, amino, -aminoalquilo, -N(alq)₂, -arilo sustituido con R6, heteroarilo sustituido con R6, -heteroarilo fusionado sustituido con R6, -trifluorometil, etc.

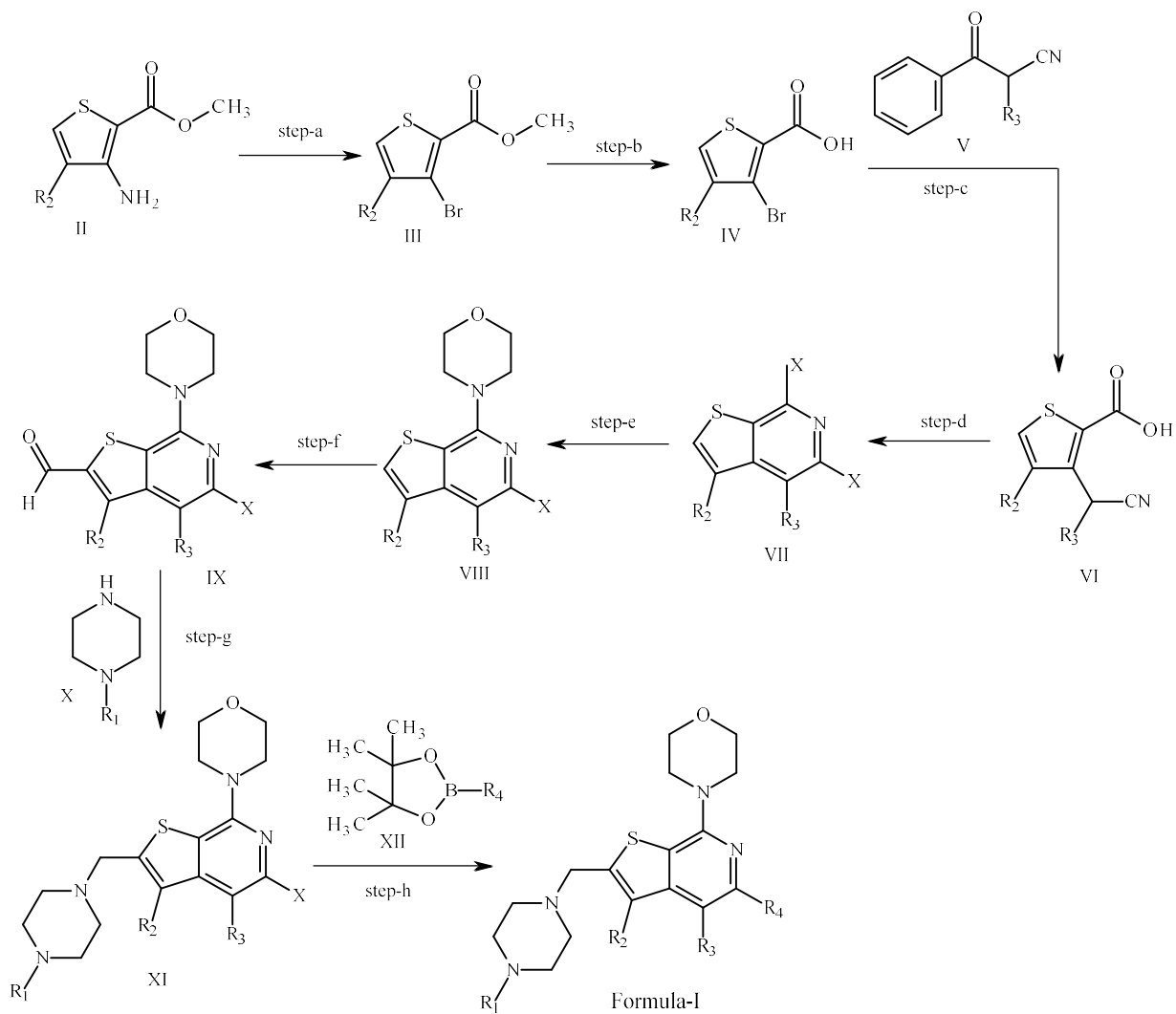
- 10 R6 se puede seleccionar entre -H, hidroxil, halógeno, ciano, nitro, amino, alquilo -C₁-C₆, -N(alq)₂, alquilo -(CH)₀₋₆ sustituido, -arilo opcionalmente sustituido, -un heteroarilo opcionalmente sustituido, -un aralquilo opcionalmente sustituido, -un aril (hidroxil) alquilo, -un acilamino aromático, -un arilsulfonilamino, -un alcoxil-aril-sulfonilamino inferior, -un hidroxilo alcoxilo inferior estirilo, -alcoxil ariloxi inferior, -un arilalquenilo opcionalmente sustituido, -heteroarilalquenilo, -heteroarilalquinilo, -acilalquinilo
15 aromático, -amino alquilo inferior opcionalmente sustituido, -Arlamino, -arilalquilamino etc.

- Los compuestos de fórmula-I y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse mediante cualquier procedimiento conocido que sea aplicable a los
20 compuestos químicamente relacionados.

- Generalmente, los compuestos activos se pueden hacer a partir de los compuestos de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)metil-tieno[2,3-c]piridina sustituida derivados de los predecesores derivados de tieno[2,3-c]piridinas sustituidas.

25

Los compuestos activos de la presente invención se pueden preparar mediante el siguiente Esquema-I sintético.



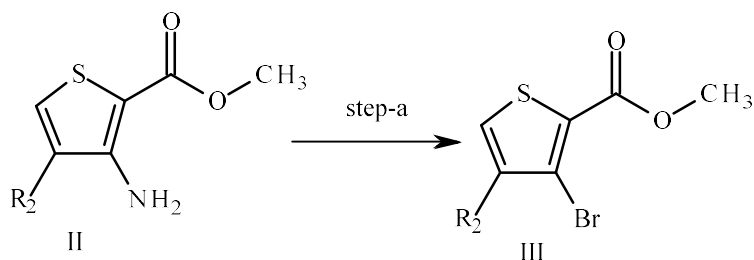
Esquema-1

En donde R1, R2, R3 y R4 son tal como se definen arriba.

5

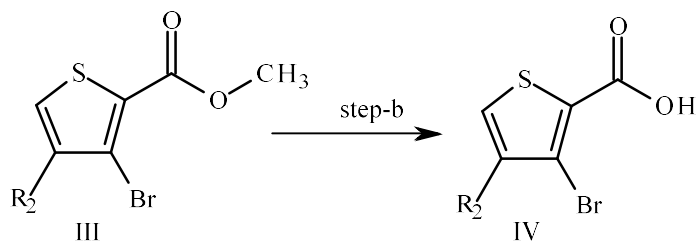
Diversos compuestos de fórmula-I se preparan mediante los siguientes métodos

a) Preparación de la fórmula – III



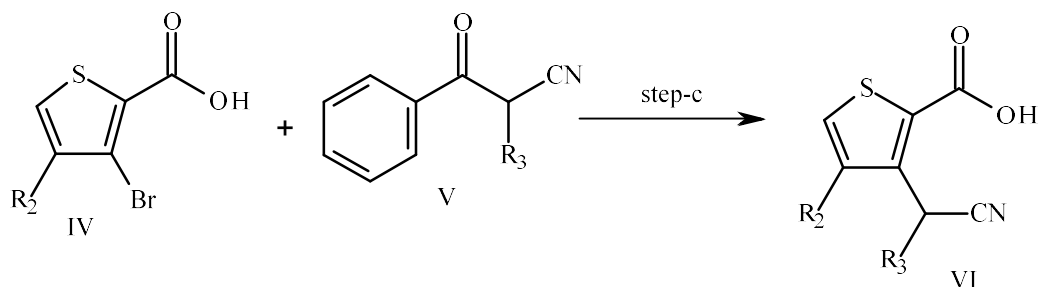
El compuesto II se trató con solución de nitrito sódico, en presencia de ácido bromhídrico y se añadió lentamente solución diazotada al bromuro de cobre (I) obtenido para la fórmula III. En donde R₂ se define tal como se hace arriba. El agente halogenante puede
 5 ser ácido bromhídrico acuoso, ácido bromhídrico en ácido acético, ácido clorhídrico. La reacción se puede hacer sola, sin ningún disolvente o con ácido bromhídrico, agua DM, etc. La temperatura de la reacción se mantuvo entre -5 °C y 110 °C, preferiblemente la temperatura de reflujo del reactivo halogenante.

10 **b) Preparación de la fórmula – IV**



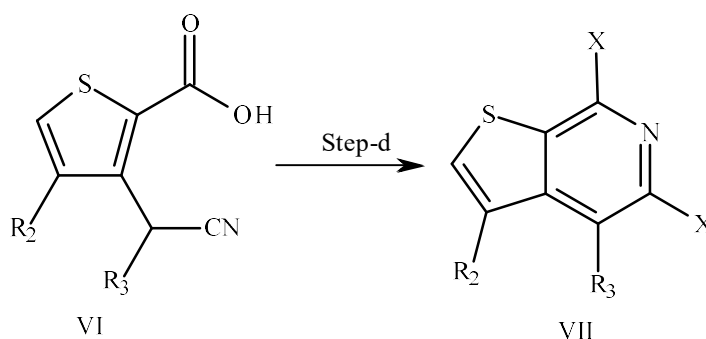
El grupo éster de los compuestos de fórmula III se hidrolizó a derivados de ácido carboxílico de los compuestos de fórmula III. Los compuestos de fórmula III se trataron con solución de hidróxido de sodio en presencia de tetrahydrofurano, metanol y agua.
 15 Finalmente, se acidificaron con ácido clorhídrico para obtener la fórmula IV (en donde R₂ se define tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 5 °C y 110° C, preferiblemente, entre 25 °C y 35 °C.

c) Preparación de la Fórmula – VI



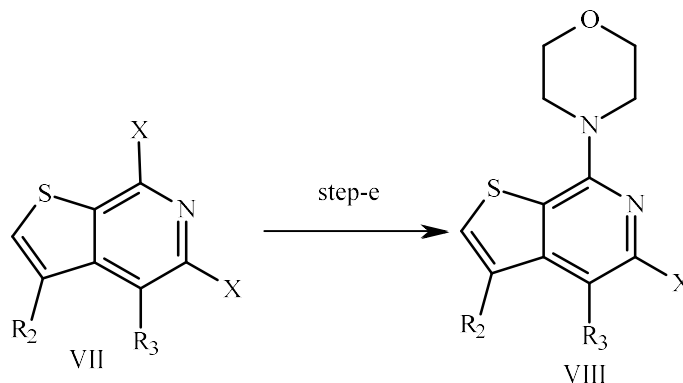
Con agentes cianantes tales como benzoylacetonitrilo sustituido en presencia de alcóxido de sodio y alcohol inferior como disolvente, o en presencia de agua, ácido clorhídrico, etc., y los compuestos de fórmula-IV se convirtieron en derivados de cianometil de tiofeno de fórmula-VI (en donde R₂ se define tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 5 °C y 110 °C, preferiblemente la temperatura de reflujo del disolvente.

d) Preparación de la fórmula – VII



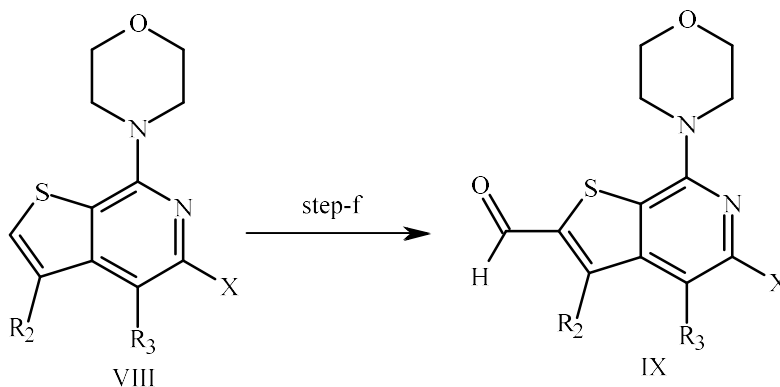
Los compuestos de fórmula VI se trataron con trihaluro de fósforo, con una cantidad catalítica de dimetilformamida, sola o en presencia de disolventes, tales como arilo halogenado o alcanos para obtener compuestos de fórmula-VII (en donde R₂, R₃ y X se definen tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 25 °C y 180 °C, preferiblemente 120 °C to 125 °C.

e) Preparación de la fórmula – VIII



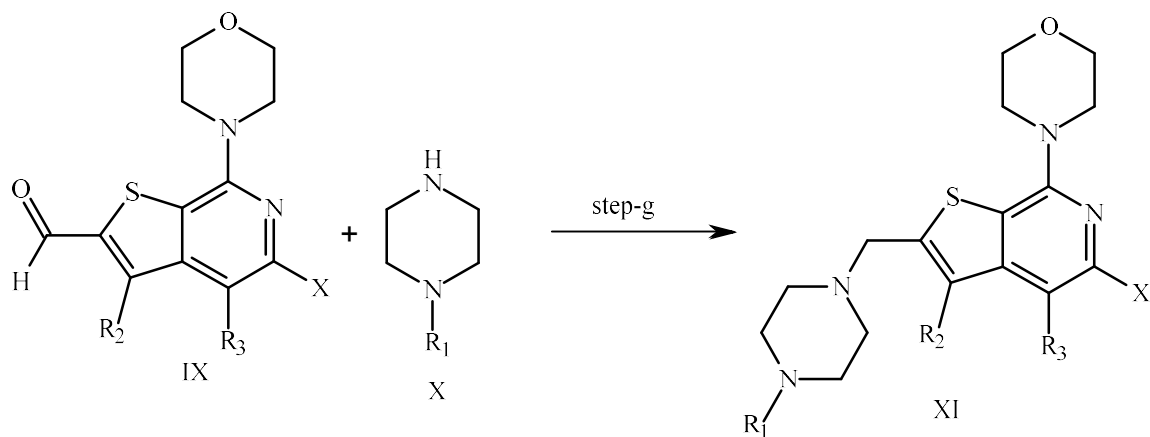
Los compuestos de fórmula VII se trataron con morfolina y etanol para obtener compuestos of fórmula VIII (en donde R2, R3 y X se definen tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 25 °C y 140 °C, preferiblemente entre 105 °C y 110 °C.

f) Preparación de la fórmula – IX



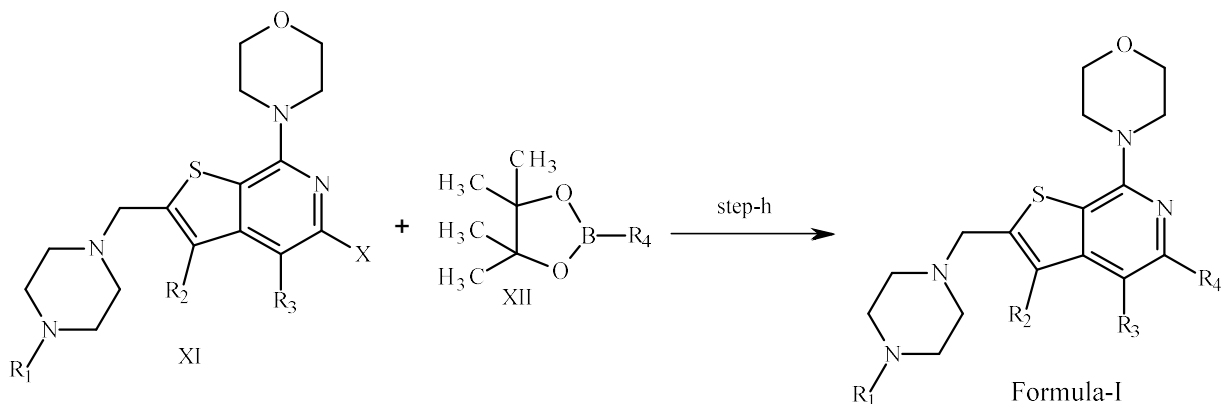
Los compuestos de fórmula-VIII se trataron con n-butil-litio en hexano y dimetilformamida para obtener compuestos de fórmula IX (en donde R2, R3 y X se definen tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre -80 °C y 0 °C, preferiblemente entre -60 °C y -70 °C.

g) Preparación de la fórmula – XI



Los compuestos de fórmula IX se trataron con fórmula X y ortoformiato de trimetilo, triacetoxiborohidruro sódico para obtener compuestos de fórmula XI (en donde R1, R2, R3, y X se definen tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 0 °C y 110 °C, preferiblemente a una temperatura de 25 °C a 35 °C.

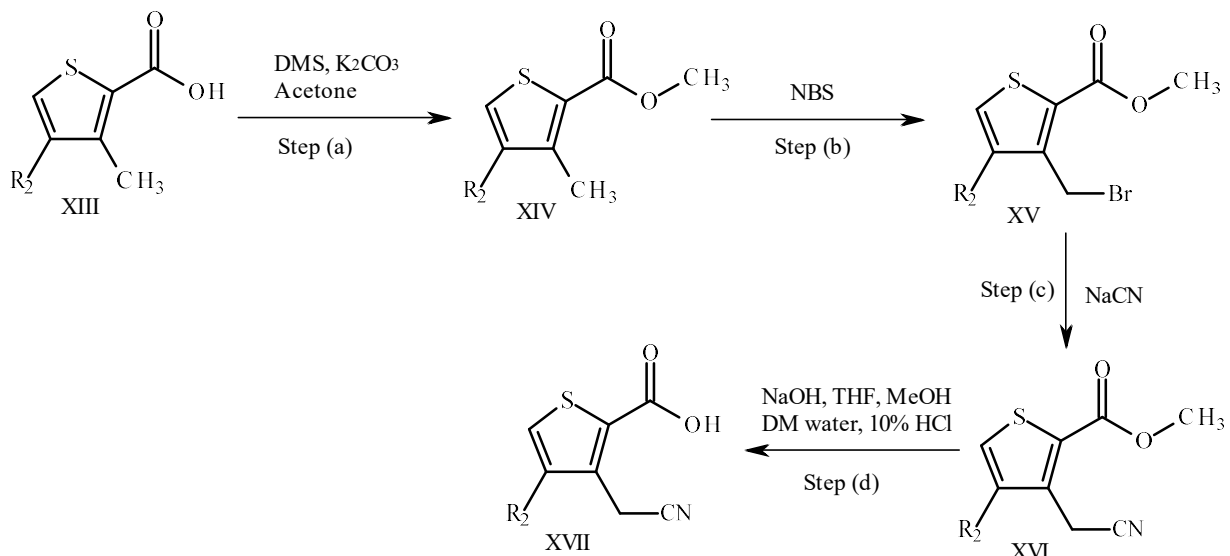
h) Preparación de la fórmula – I



Los compuestos de fórmula XI fueron tratados con fórmula XII de ésteres borónicos o ácidos borónicos en presencia de dicloruro de bis trifenilfosfina (II), solución de carbonato de sodio acuoso y tolueno y etanol para obtener compuestos de fórmula I (en donde R1, R2, R3 y R4 se definen tal como se hace arriba). La temperatura de la reacción se mantuvo entre 0 °C y 160 °C, preferiblemente de 115 °C a 120 °C.

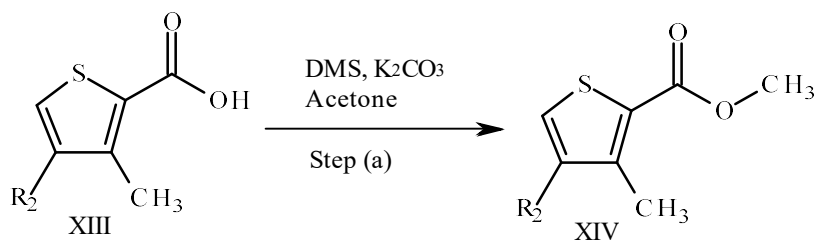
Alternativamente, los compuestos de fórmula-XVII se pueden preparar mediante el siguiente Esquema-II:

Esquema – II



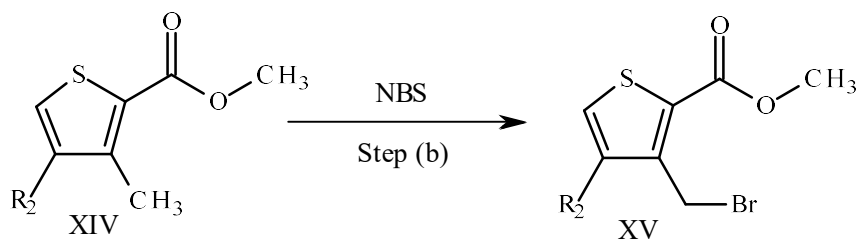
5

i) Preparación de los compuestos de fórmula-XIV



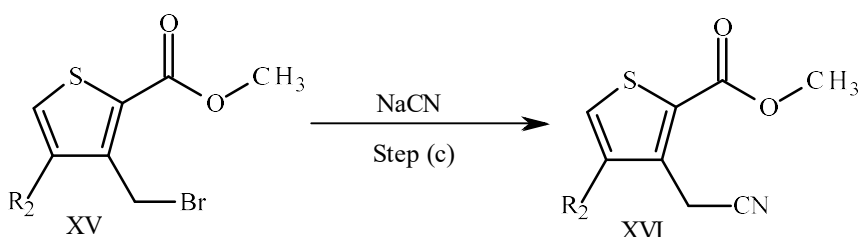
- 10 Los ácidos 3-metil-2-tiofeno carboxílicos sustituidos (de fórmula-XIII) se trataron con sulfato de dimetilo y carbonato de potasio en disolvente de acetona para obtener compuestos de fórmula –XIV. La temperatura de la reacción se mantuvo entre 15 °C y 55 °C, preferiblemente de 25 °C a 30 °C.

- 15 j) Preparación de los compuestos de fórmula-XV



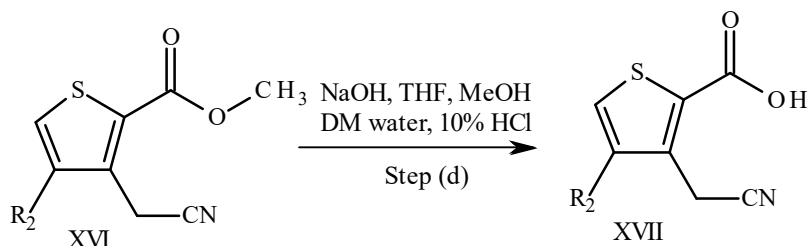
Los compuestos de fórmula-XIV se trataron con N-Bromosuccinimida y peróxido de benzoilo en disolvente de tetracloruro de carbono para obtener compuestos de fórmula-XV. La temperatura de la reacción se mantuvo entre 25 °C y 110 °C, preferiblemente a una temperatura de 40 °C a 80 °C y más preferiblemente a una temperatura de 75 °C a 80 °C.

k) Preparación de los compuestos de fórmula-XVI



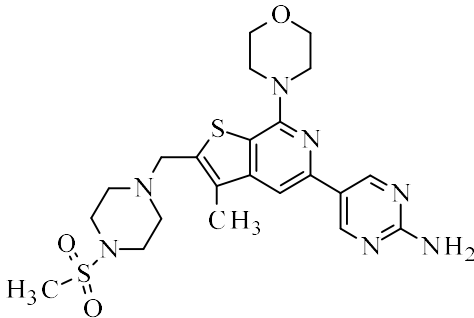
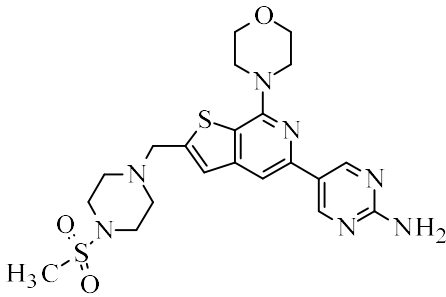
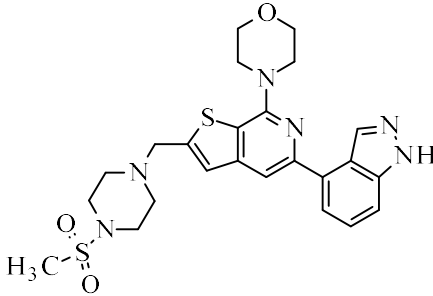
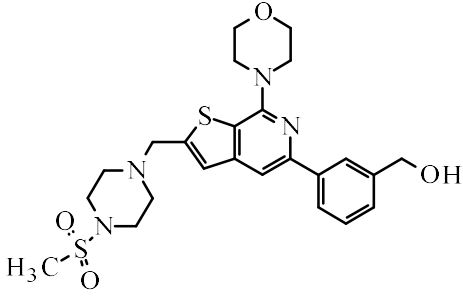
Los compuestos de fórmula-XV se trataron con cianuro sódico en agua para obtener compuestos de fórmula-XVI. La temperatura de la reacción se mantuvo entre 25 °C y 90 °C, preferiblemente a una temperatura de 50 °C a 55 °C.

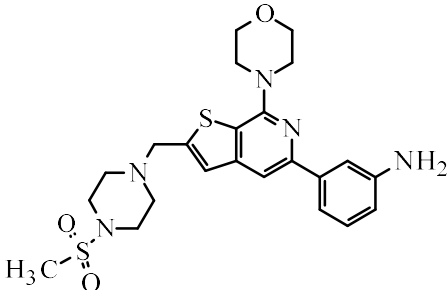
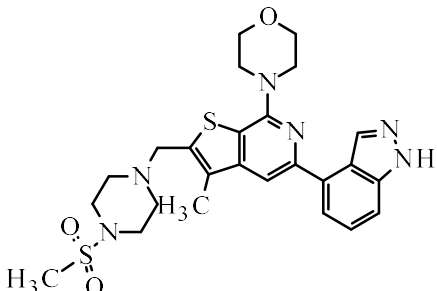
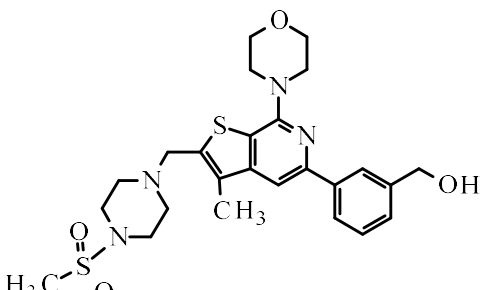
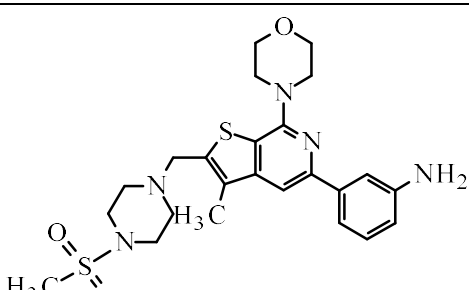
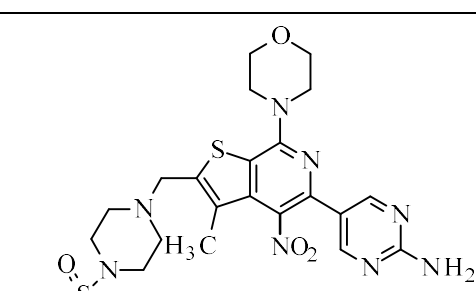
l) Preparación de los compuestos de fórmula -XVII



Los compuestos de fórmula XVI se trataron con solución de hidróxido de sodio en presencia de tetrahydrofurano y metanol y finalmente se acidificó con solución de ácido clorhídrico obtenida para la Fórmula-XVII. La temperatura de la reacción se mantuvo entre 25 °C y 60 °C, preferiblemente a una temperatura de 25 °C a 30 °C .

La invención se refiere particularmente a nuevos derivados de piridina fusionados y sintetizados como fármacos anticancerígenos.

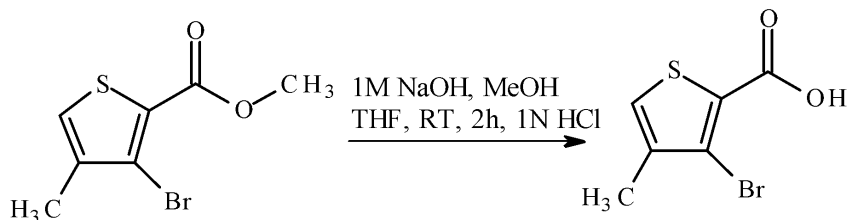
No. de S.	Número del compuesto	Estructura	Nombre químico
1.	Compuesto-1		5-[3-metil-2-[(4-metil sulfonylpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno[2,3-c] piridin-5-il]pirimidin-2-amina
2.	Compuesto-2		5-[2-[(4-metilsulfonyl piperazin-1-il)metil]-7-morfolino-tieno[2,3-c] piridin-5-il]pirimidin-2-amina
3.	Compuesto-3		4-[5-(1H-indazol-4-il)-2-[(4-metilsulfonyl piperazin-1-il)metil] tieno[2,3-c]piridin-7-il]morfolina
4.	Compuesto-4		[3-[2-[(4-metilsulfonyl piperazin-1-il)metil] -7-morfolino-tieno[2,3-c] piridin-5-il]fenil] metanol

5.	Compuesto-5		3-[2-[(4-metilsulfonil piperazin-1-il)metil]-7-morfolino-tieno[2,3-c] piridin-5-il]anilina
6.	Compuesto-6		4-[5-(1H-indazol-4-il)-3-metil-2-[(4-metilsulfonil piperazin-1-il)metil]tieno [2,3-c]piridin-7-il]morfolina
7.	Compuesto-7		[3-[3-metil-2-[(4-metil sulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno[2,3-c]piridin-5-il]fenil]metanol
8.	Compuesto-8		3-[3-metil-2-[(4-metil sulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno[2,3-c]piridin-5-il]anilina
9.	Compuesto-9		5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il)metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno[2,3-c]piridin-5-il]pirimidin-2-amina

A una solución agitada de 50 g (0,292 moles) de 3-amino-4-metiltiofeno-2-carboxilato de metilo en 110 ml de ácido bromhídrico se añadieron gota a gota 21,17 g (0,306 moles) de nitrito sódico en 50 ml de agua, mientras se mantiene la temperatura de la mezcla de reacción a 0-50 °C mediante enfriamiento en baño de agua helada. Cuando la adición se completó, se agitó la solución a 0-5 °C durante 60 minutos. La disolución diazotizada se añadió gota a gota a una solución de 44,0 g (0,306 moles) de bromuro de cobre (I) en 130 ml de ácido bromhídrico, mientras se mantenía la temperatura de la mezcla de reacción a 0-5 °C mediante enfriamiento en baño de agua helada. Cuando la adición se completó, se agitó la solución a 0-5 °C durante 30 minutos y luego se calentó la mezcla de reacción en un baño a temperatura constante a 65 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 600 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por enfriamiento y se extrajo con dos porciones de 400 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron dos veces con porciones de 400 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación a vacío a 60 °C para dar 3-bromo-4-metil-2-tiofenocarboxilato de metilo, 65,5 g (95,3%) como un sólido amarillo, punto de fusión de 73 °C a 76,5 °C con 86% de pureza por HPLC. ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 2,21 (d, CH₃, 3H), 3,82 (s, O-CH₃, 3H), 7,759-7,761 (d, 1H). ¹³CNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 15,80(1C), 52,13(1C), 119,21(1C), 126,37(1C), 128,38 (1C), 138,98 (1C), 160,38(1C). Masa: 237,0 [M+2], 235,0 [M].

20

Ejemplo-2: Preparación de ácido 3-bromo-4-metiltiofeno-2-carboxílico



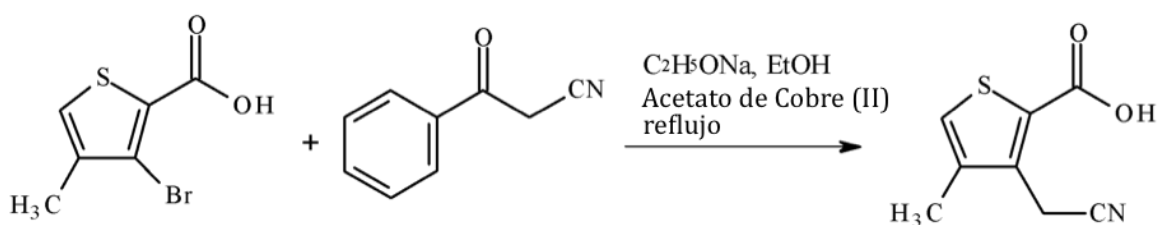
Se disolvió 3-bromo-4-metil-2-tiofenocarboxilato de metilo (64,0 g, 0,272 mol) en una mezcla de metanol (288 ml) y tetrahidrofurano (288 ml), y se añadió hidróxido sódico acuoso 1N (420 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. y se acidificó con 1N de ácido clorhídrico para dar 35,5 g (59,0%) de ácido 3-bromo-4-

25

metiltiofeno-2-carboxílico como un sólido blanco incoloro, punto de fusión 227 °C a 229 °C con pureza del 97,3% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 2,21 (d, CH₃, 3H), 7,692-7,794 (d, 1H), 13,30 (s, OH, 1H) ¹³ CNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 15,98(1C),
5 118,45(1C), 127,70(1C), 128,24 (1C), 138,96(1C), 161,54(1C). Masa: 221,0 [M].

Ejemplo-3: Síntesis de ácido 3-(cianometil)-4-metil-tiofeno-2-carboxílico

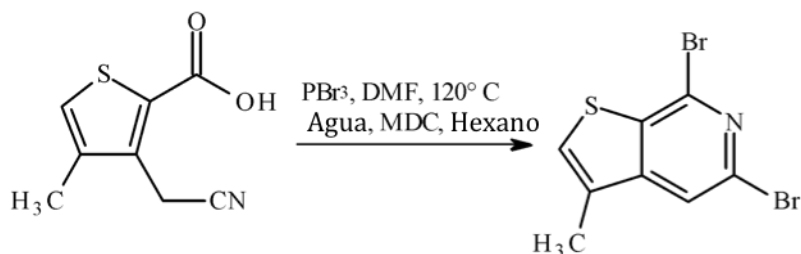


10 Se añadió acetonitrilo de benzoilo (73,8 g, 0,508 mol) a una solución enfriada de etóxido
sódico (preparada disolviendo 19,5 g de metal sódico 0,847 mol en 1125 ml de etanol).
Se añadió ácido 3-bromo-4-metil-tiofeno-2-carboxílico (75,0 g, 0,339 mol) y se agitó la
mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadieron 4,5 g (0,0247 mol, 0,07
meq) de acetato de cobre (II) anhidro y se hirvió la mezcla a reflujo durante 2 horas. Se
15 añadieron 4,5 g (0,0247 moles, 0,07 meq) de acetato de cobre (II) anhidro y se hirvió la
mezcla a reflujo durante 8 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró la
masa. El etanol se eliminó por destilación al vacío a una temperatura de 60 °C . La
mezcla de reacción se diluyó con 750 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por
enfriamiento y se acidificó la solución con ácido clorhídrico, y se extrajo con dos
20 porciones de 750 ml de acetato de etilo. Se combinaron los extractos de acetato de etilo y
se extrajeron dos veces con porciones de 750 ml de solución de carbonato de sodio al 5%.
Se combinaron los extractos de carbonato de sodio acuoso, se acidificó la solución con
ácido clorhídrico y se extrajo con dos porciones de 325 ml de acetato de etilo. El acetato
de etilo se eliminó por destilación a vacío, para dar un producto bruto y recristalización
25 del producto bruto a partir de éter isopropílico para dar 35,10 g (57,14%) de sólido
amarillo, punto de fusión desde 140 °C a 143 °C con 94,1% de pureza por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 2,24 (s, CH₃, 3H), 4,25 (s, CH₂, 2H), 7,58 (d, 1H), 13,65 (s, OH, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 14,05(1C), 117,46 (1C), 128,10(1C), 130,18 (2C), 135,58 (1C), 138,55 (1C), 163,02 (1C). Masa: 180,1 [M-1].

5

Ejemplo-4: Preparación de 5,7-dibromo-3-metiltieno [2, 3-c] piridina

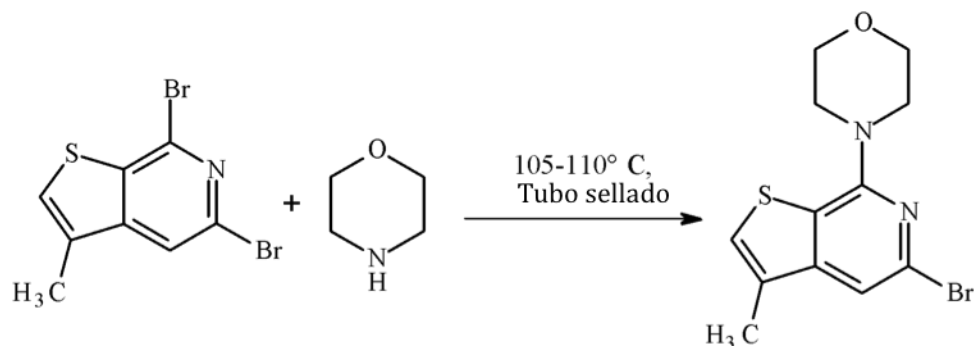


Se hizo reaccionar ácido 3-(cianometil)-4-metil-2-tiofenocarboxílico (56,0 g, 0,309 mol) en tribromuro de fósforo (371 ml) y dimetilformamida (35 ml) a 120-125 °C, durante 4 horas. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Se añadió la mezcla de reacción bajo enfriamiento al agua helada (3920 ml) para dar un producto bruto sólido. El producto bruto se disolvió en cloruro de metileno (560 ml), se lavó con 560 ml de agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminó el cloruro de metileno por destilación bajo vacío y el sólido se trituroó con hexano para dar 67,7 g (71,2%) como un sólido de color marrón claro, punto de fusión de 148 °C a 150 °C , con una pureza del 94,3% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 2,41(d, 3H), 7,41 (d, 1H), 7,76 (s, 1H)
¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 13,78 (1C), 119,46 (1C), 130,03 (1C), 132,37 (1C), 133,31 (1C), 134,06 (1C), 138,68 (1C), 148,18 (1C). Masa: 308,12[M+1].

20

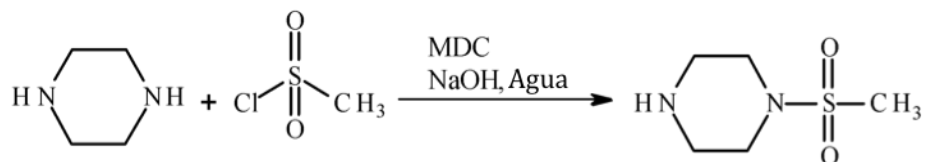
Ejemplo-5: Preparación de 4-(5-bromo-3-metiltieno-[2, 3-c] piridina-7-il)-morfolina



Se calentó una solución de 110g (0,325 mol) de 5, 7-dibromo-3-metiltieno [2, 3-c] piridina disuelta en 275 ml de etanol y 284,4 g (3,271 mol) de morfolina en un tubo sellado, a temperatura constante de 105-110 °C durante 4 horas. El etanol y el exceso de morfolina se eliminaron por destilación al vacío, el producto bruto se disolvió en cloruro de metileno (2000 ml), se lavó con cuatro porciones de 600 ml de agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El cloruro de metileno se eliminó por destilación a vacío y el sólido se trituró con éter diisopropílico para dar 61,17 g (60,0%) de sólido de color marrón claro, con una pureza del 97,4% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 2,36 (d, CH₃, 3H), 3,71-3,73 (t, 4H, 2 CH₂), 3,86-3,88 (t, 4H, 2 CH₂), 7,19-7,20 (d, 1H), 7,27 (s, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 13,65 (1C), 48,08 (2C), 66,82 (2C), 112,11 (2C), 122,07(1C), 126,13(1C), 130,78 (1C), 133,93 (1C), 149,74 (1C), 154,95 (1C). Masa: 313,21 [M]

15 Ejemplo-6: Preparación de 1-metanosulfonilpiperazina

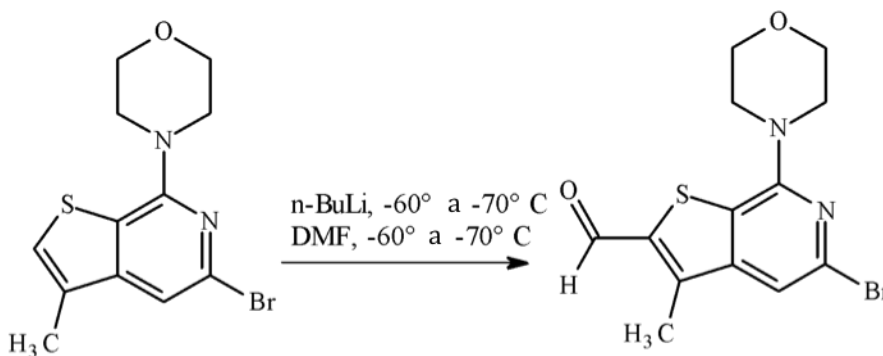


A una solución agitada de 100,0 g (1,16 mol) de piperazina disuelta en 2000 ml de cloruro de metileno, se añadieron gota a gota 133,2 g (1,16 mol) de cloruro de metanosulfonilo a 25-30 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas y la masa se basificó con hidróxido sódico acuoso al 25% p/v. La masa de reacción se filtró y se lavó con 800 ml de agua, y se secó sobre sulfato de sodio

anhidro. El cloruro de metileno se eliminó por destilación al vacío para dar 81,2 g (42,5%) como un sólido blanquecino con 98,3% de pureza por ensayo químico.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 1,64 (s, NH, 1H), 2,77 (s, CH₃, 3H), 2,95-2,98 (t, 4H, 2 CH₂), 3,18-3,21 (t, 4H, 2 CH₂). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 33,85 (1C), 45,34 (2C), 46,54 (2C). Masa: 165,1 [M+1]

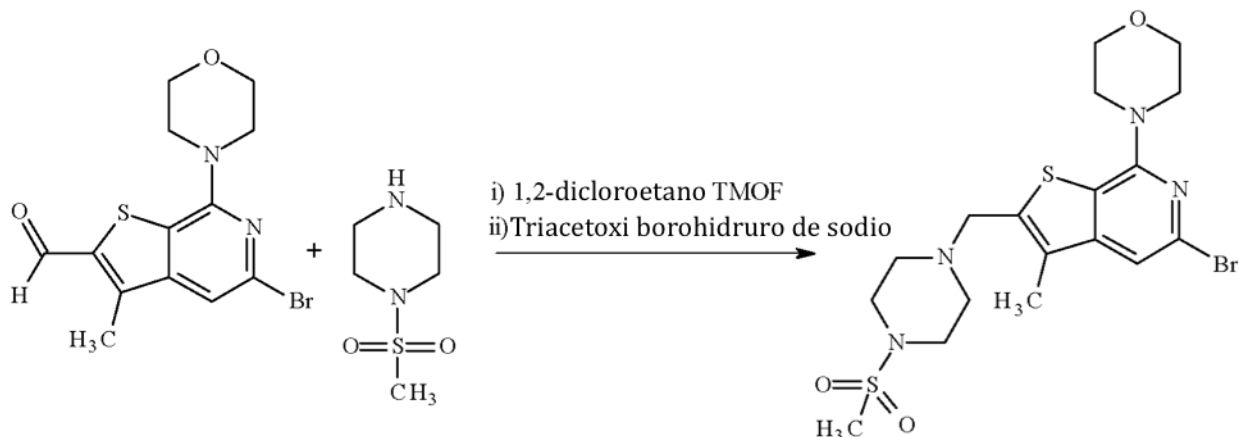
Ejemplo-7: Preparación de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridina



A una solución agitada de 50 g (0,1597 moles) de 4-(5-bromo-3-metiltieno-[2, 3-c] piridina-7-il)-morfolina en un tetrahidrofurano seco (750 ml) a -60 °C a -70 °C se añadieron 120 ml (0,192 moles) de 1,6 M de n-butil-litio en hexano. Después de agitar durante 1 hora y media, se añadieron 29,0 g (0,39 mol) de dimetilformamida seca. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a -60 °C hasta -70 °C y luego se calentó lentamente hasta temperatura ambiente. Después de otras dos horas de mantenimiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua/hielo (2250 ml) y se extrajo con dos porciones de 1000 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación al vacío a 60 °C para dar 35,30 g (64,7%) en forma de un sólido amarillo, punto de fusión 170 °C a 182,50 °C con una pureza del 96,4% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,41(s, 3H, CH₃), 3,63 (t, 4H, 2 CH₂), 3,73 (t, 4H, 2CH₂), 8,16 (s, 1H), 10,34 (s, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 11,9 (1C), 48,7 (2C), 66,6 (2C), 112,4 (1C), 123,2(1C), 132,4(1C), 134,5(1C), 147,3(1C), 150,0 (1C), 155,1(1C), 183,8 (1C, C=O). Masa: 340,9 [M]

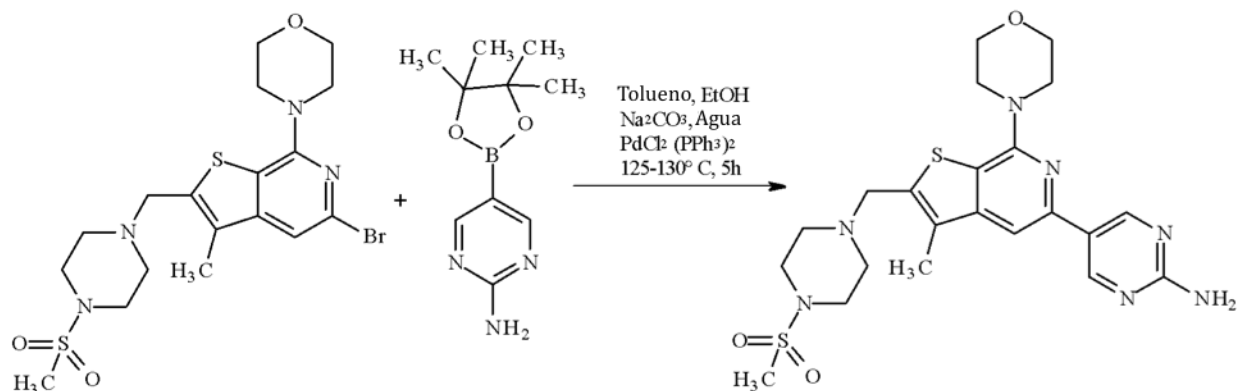
Ejemplo-8: Preparación de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina



5 A una solución agitada de 107,0 g (0,3137 moles) de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridina, 82,0 g (0,50 mol) de 1-metanosulfonilpiperazina y 700 g de ortoformiato de trimetilo en 3210 ml de 1,2-dicloroetano durante 4 horas. Se añadieron 700 g de ortoformiato de trimetilo y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. A esto se añadieron 205,5 g (0,9693 moles) de triacetoxi borohidruro de sodio
 10 y 1070 ml de 1,2-dicloroetano. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla se interrumpió después con 5350 ml de agua, se extrajo con dos porciones de 1750 ml de cloruro de metileno. Los extractos de cloruro de metileno se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Los disolventes se eliminaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto
 15 se recrystalizó dos veces en acetonitrilo (640 ml) para dar 84,2 g (54,87%) en forma de un sólido marrón, punto de fusión 212 °C a 215 °C con una pureza del 94,7% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,27 (s, 3H, CH₃), 2,64 (t, 4H, 2 CH₂), 2,8 (s, 3H, CH₃), 3,27 (t, 4H, 2 CH₂), 3,67 (t, 4H, 2 CH₂), 3,79 (s, 2H, 1CH₂), 3,85 (t, 4H, 2 CH₂), 7,20 (s, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ ppm 11,7 (1C), 34,4 (1C), 45,7 (2C), 48,1 (2C), 52,5 (2C), 54,9 (2C), 66,8 (1C), 112,0 (1C), 120,7 (1C), 128,5 (1C),
 20 134,0 (1C), 141,3 (1C), 150,9 (1C), 154,6 (1C). Masa: 491,1[M+2], 489,1[M].2

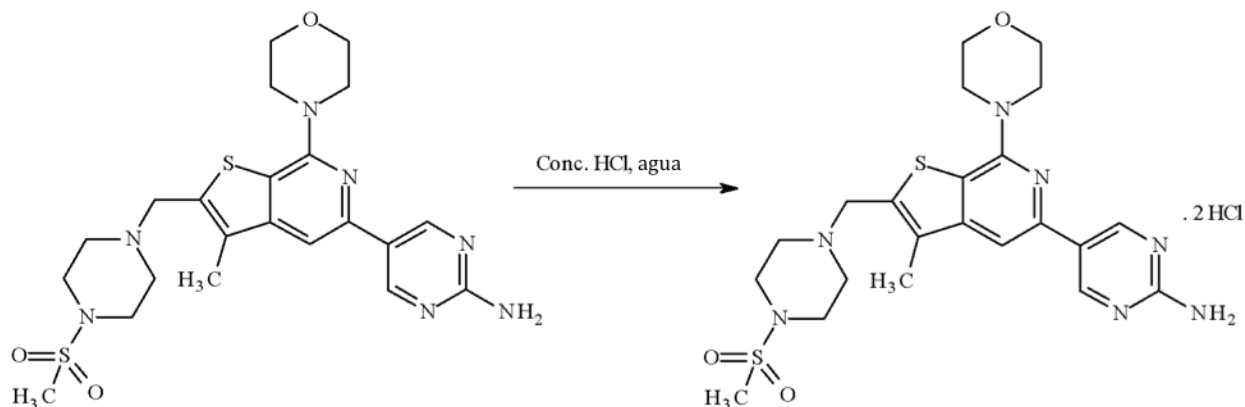
Ejemplo-9: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina (Compuesto-1).



Una mezcla de 44,0 g (0,0899 moles) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 21,80 g (0,0986 mol, 1,10 meq) de dicloruro de bis (trifenilfosfina) paladio (II), etanol (300 ml), tolueno (300 ml), agua (100 ml) y 33,30 g (0,3146 mol, 3,50 meq) de carbonato de sodio se calentó a 125-130 °C en el tubo de vidrio sellado durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se eliminaron por destilación a vacío para dar el producto
bruto. El producto sólido en bruto se purificó mediante un método de purificación ácido-base para dar 35,10 g (77,65%) como un sólido de color marrón claro con una pureza de HPLC del 99,7%.

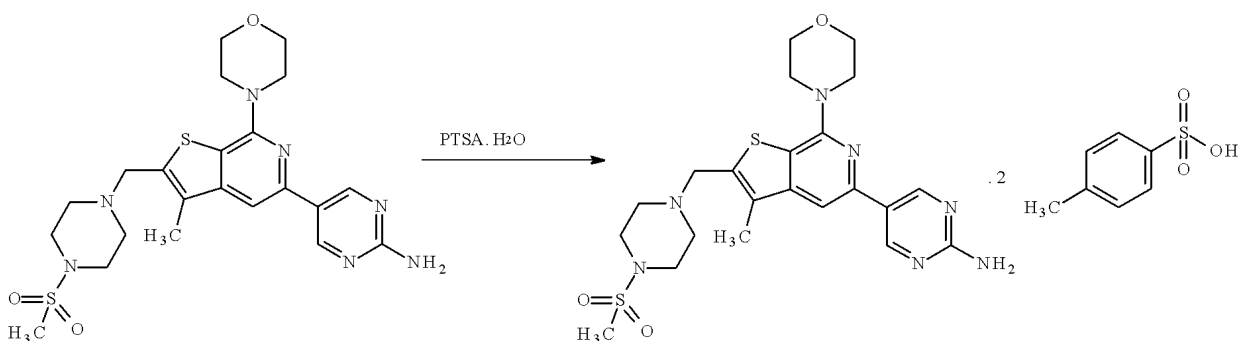
¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,36(s,3H,CH₃),2,58 (t, 4H, 2-CH₂), 2,89(s, 3H), 3,13(t, 4H, 2-CH₂), 3,59 (t, 4H, 2-CH₂), 3,79 (t, 4H,2-CH₂), 3,83 (s, 2H,CH₂), 5,24(s,2H,NH₂), 7,70 (s,1H), 9,00 (s,2H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ ppm: 11,5(1C), 33,7(1C), 45,3 (2C), 47,9 (2C), 51,8 (2C), 53,9 (2C), 66,1(1C), 103,6 (1C), 119,6 (1C), 121,4 (1C), 129,1(1C), 140,7 (1C), 145,4 (1C), 149,5(1C), 154,4 (1C), 156,1(2C), 163,2(1C). Masa: 504,1[M+1]

Ejemplo-10: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina (Compuesto-1. 2HCl).



A una solución agitada de 15,0 g de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina en 75,0 ml de ácido clorhídrico concentrado se añadieron 600 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, tiempo durante el cual se hizo presente gradualmente un precipitado amarillo. El sólido se filtró y se lavó con 1N de ácido clorhídrico, se secó al vacío a 80-85 °C para dar 15,10 g (88,0 %) como un sólido amarillo con pureza HPLC 99,4 % y contenido en diclorhidrato 99,13 % en teoría.

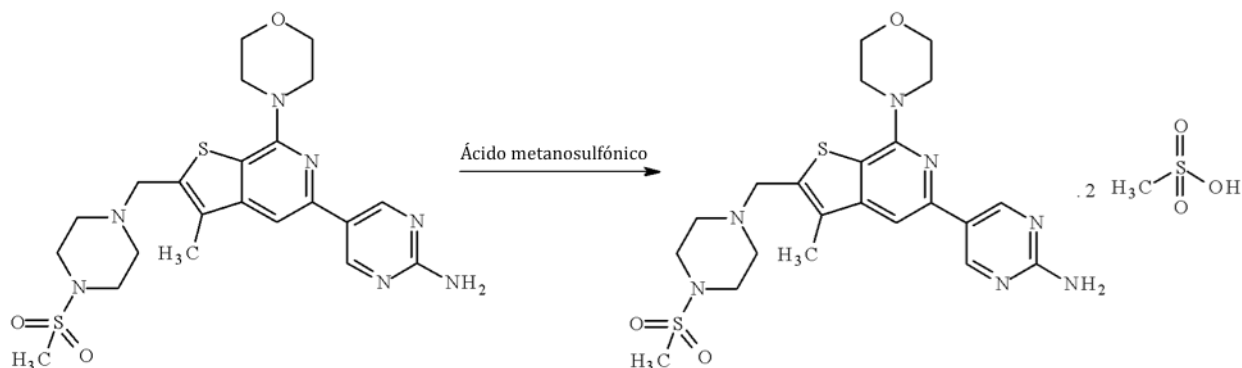
Ejemplo-11: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina ditosilato (Compuesto-1, ditosilato)



A una solución agitada de 10,0 g (0,01985 moles) de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina en un cloruro de metileno (500 ml) y metanol (100 ml) se añadió un monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (8,30 g, 0,04367 mol, 2,20 meq). A continuación se eliminaron los disolventes por destilación al vacío para dar un sólido amarillo.

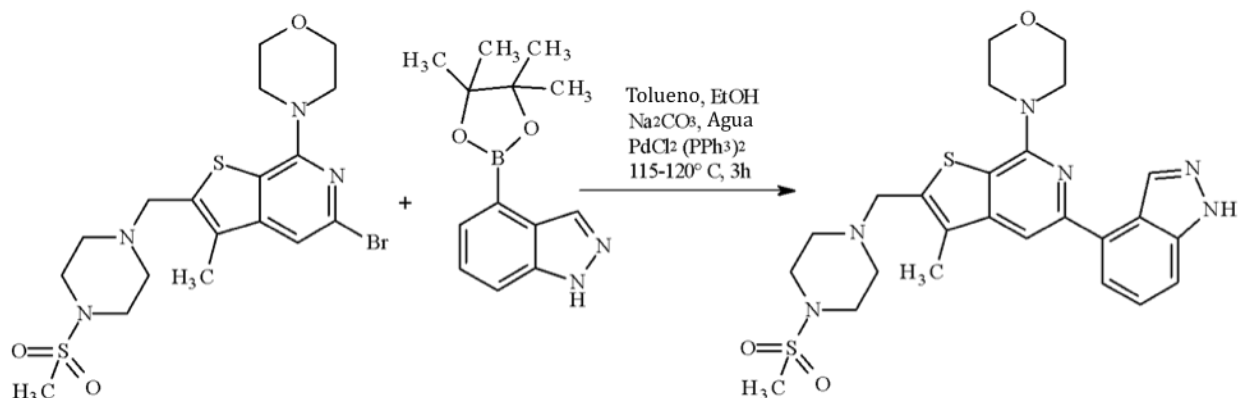
Posteriormente, el sólido se trituró con 300 ml de acetona, se secó a vacío a 40-45 °C para dar 15,10 g (89,97%) como un sólido amarillo con pureza HPLC 99,7% y contenido de dimesilato fue de 100,5% p/p en teoría.

5 **Ejemplo-12: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina (dimesilato de Compuesto-1)**



A una solución agitada de 12,0 g (0,02382 moles) de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina en un cloruro de metileno (600 ml) y metanol (120 ml) se añadieron 9,40 g (0,0952 moles, 4,0 meq) de ácido metanosulfónico. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente, durante este tiempo se hizo presente gradualmente un precipitado amarillo. El sólido se filtró y se lixivió con acetona (180 ml), se secó al vacío a 50 - 55 °C para dar 16,10 g (97,16%) de sólido amarillo con pureza HPLC 99,8% y contenido de dimesilato 99,6% p/p en teoría.

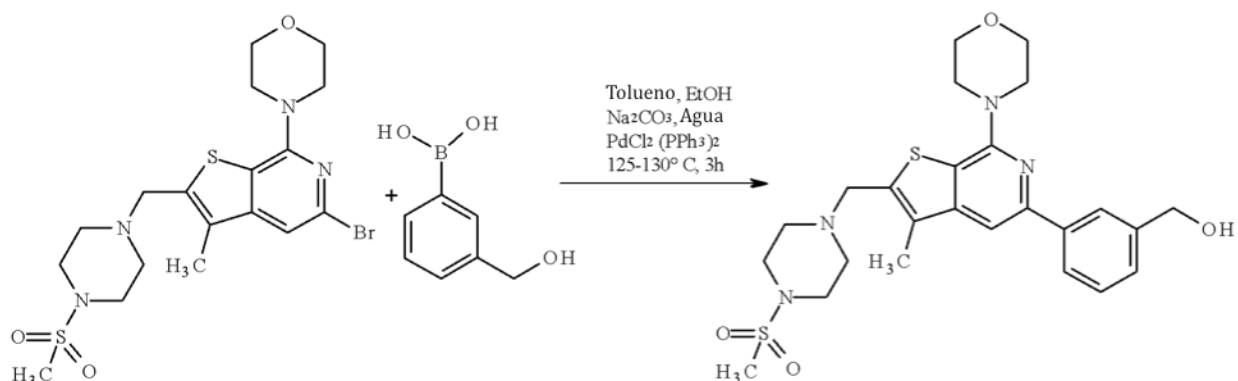
20 **Ejemplo-13: Preparación de 4-[5-(1H-indazol-4-il)-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina (Compuesto-6)**



Una mezcla de 200 mg (0,40 mmol) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 200 mg (0,80 mmol, 2,0 meq) de 4-(4, 4, 5, 5-tetrametil-[1, 3] dioxoborolan-2-il)-1H-indazol, 50,0 mg (0,07 mmol, 0,17 meq) bis (trifenilfosfina) paladio (II), etanol (4 ml), tolueno (4 ml), agua (1 ml), se calentó 200 mg
 5 de carbonato de sodio a 115-120 °C en un tubo de vidrio sellado durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se eliminaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna utilizando hexano y acetato de etilo para dar 120 mg (55,8%) en forma de un sólido de color marrón claro.
 10

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,37(s,3H,CH₃), 2,59(t, 4H, 2-CH₂), 2,90(s, 3H), 3,15(t, 4H, 2-CH₂), 3,64(t, 4H, 2-CH₂), 3,84(t, 4H, 2-CH₂), 3,92(2H,CH₂), 7,45(s,1H), 7,94(s,1H), 7,56(d,1H), 7,58(d,1H), 7,69(d,1H), 13,1(s,1H). Masa:
 15 527,2[M+1]

Ejemplo-14: Preparación de [3-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] fenil] metanol (Compuesto-7)

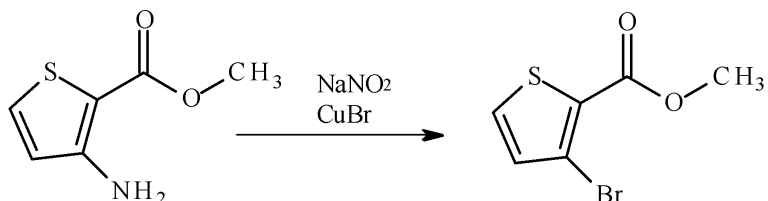


Se calentó una mezcla de 200 mg (0,40 mmol) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 124 mg (0,8 mmol, 2,0 meq) de ácido 3-(hidroximetil) fenilborónico, 50,0 mg (0,142 mmol, 0,17 meq) de dicloruro de bis (trifenilfosfina) paladio (II), etanol (4 ml), tolueno (4 ml), agua (1 ml) y 200 mg de carbonato sódico a 115-120 °C en el tubo de vidrio sellado durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se separaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se purificó por cromatografía en columna utilizando hexano y acetato de etilo para dar 95 mg (45,2%) de sólido amarillo.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO) Valor δ (ppm): 2,40(s,3H,CH₃), 2,59(t, 4H,2-CH₂), 2,90(s, 3H,CH₃), 3,14(t, 4H, 2-CH₂), 3,60(t, 4H, 2-CH₂), 3,82(t, 4H, 2-CH₂), 3,85(s,2H, CH₂), 4,58(d,2H), 5,24(t,1H), 7,33(d,1H), 7,41(t,1H), 7,76(s,1H), 8,0(d,1H), 8,10(s,1H).

¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ ppm): 11,7(1C), 33,9(1C), 45,4(2C), 48,2(2C), 51,9(2C), 54,0(1C), 63,0(1C), 66,2(2C), 105,7(1C), 120,6 (1C), 124,6(1C), 125,0(1C), 126,6(1C), 128,4(1C), 129,5(1C), 139,2 (1C), 140,9(1C), 142,7(1C), 149,0(1C), 149,6(1C), 154,5(1C). Masa: 517,3[M+1]

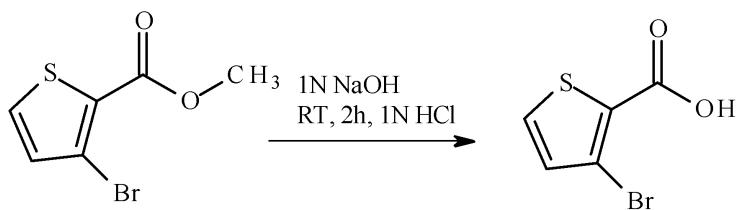
20 Ejemplo-15: Preparación de 3-bromo-2-tiofenocarboxilato de metilo



Se suspendió éster metílico del ácido 3-amino-2-tiofencarboxílico (100 g, 0,6369 moles) en ácido bromhídrico (220 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla se enfrió a 0-5 °C y se añadió nitrito de sodio (46,0 g, 0,666 mol) en
 5 agua (100 ml) gota a gota por debajo de 5 °C. La mezcla se agitó durante 1 hora, y después se añadió a un bromuro de cobre (I) (96,0 g, 0,6692 moles) en ácido bromhídrico (260 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 60-65 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 1200 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por enfriamiento y se extrajo con dos porciones de 600 ml de acetato de etilo. Los
 10 extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron dos veces con porciones de 600 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación bajo vacío a 60 °C para dar 129,0 g (91,6%) en forma de un sólido amarillo, punto de fusión de 47°C a 48°C, con una pureza del 96% mediante HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 3,90(s, O-CH₃, 3H), 7,09(d, 1H), 7,46(d, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 52,10(1C), 116,96(1C), 127,12(1C),
 15 130,61 (1C), 133,63 (1C), 161,0 (1C). Masa: 222,8 [M+1].

Ejemplo-16: preparación de ácido 3-bromo-2-tiofeno carboxílico

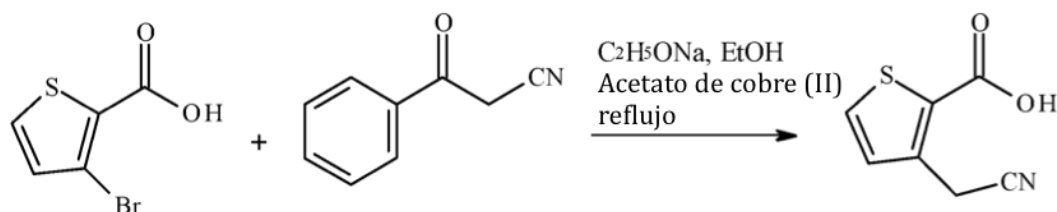


20 Se disolvieron 128,0 g (0,5791 mol) de 3-bromo-2-tiofenocarboxilato de metilo en una mezcla de metanol (576 ml) y tetrahidrofurano (576 ml) y se añadió 1N de hidróxido sódico acuoso (876 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se acidificó con 1N de ácido clorhídrico, y se extrajo con dos porciones de 740 ml de

acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con 740 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El producto obtenido era un sólido blanquecino, punto de fusión de 192 °C a 198,5 °C, con 98,1% de pureza por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 7,25-7,26 (d, 1H), 7,91-7,93 (d, 1H),
 5 13,43 (s, OH, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 116,02(1C),
 128,35(1C), 133,19(2C), 161,66 (1C). Masa: 207 [M].

Ejemplo-17: Preparación de ácido 3-cianometil-2-tiofenocarboxílico

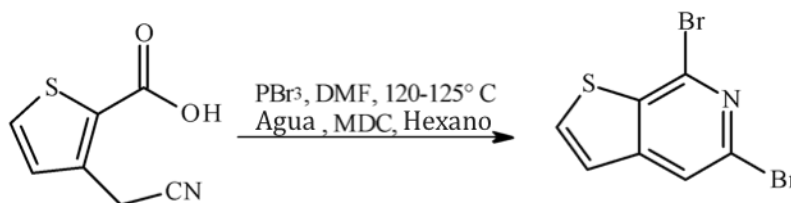


10 Se añadió acetonitrilo de benzoilo (73,8 g, 0,508 mol) a una solución enfriada de etóxido de sodio (preparada a partir de 19,5 g, 0,847 mol de sodio y 1125 ml de etanol). Se añadió ácido 3-bromo-2-tiofeno-2-carboxílico (75,0 g, 0,362 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadieron 4,5 g (0,0247 moles) de acetato de cobre (II) anhidro y se hirvió la mezcla a reflujo durante 2 horas. Se añadieron 4,5 g
 15 (0,0247 moles) de acetato de cobre (II) anhidro y se hirvió la mezcla a reflujo durante 8 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró la masa. El etanol se eliminó por destilación al vacío a una temperatura de 60 °C . La mezcla de reacción se diluyó con 750 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por enfriamiento y se acidificó la solución con ácido clorhídrico y se extrajo con dos porciones de 750 ml de acetato de
 20 etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron y se extrajeron dos veces con porciones de 750 ml de solución de carbonato de sodio al 5 %. Los extractos de carbonato de sodio acuoso se combinaron, se acidificó la solución con ácido clorhídrico y se extrajo con dos porciones de 325 ml de acetato de etilo. El acetato de etilo se eliminó por destilación al vacío, para dar un producto bruto y recristalización de un producto
 25 bruto de éter isopropílico para dar 34,8 g (56,65 %) como un sólido amarillo, punto de fusión de 102 °C a 106 °C, con pureza del 97,1 % por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 4,25 [s, CH₂ (2H)], 7.24 (d, 1H), 7,88(d, 1H), 13,44[s, (ancho), OH, 1H]. ¹³ CNMR (400 MHz, DMSO-d₆) Valor δ (ppm): 17,72(1C), 118,5(1C), 129,5(1C), 130,6(1C), 132,46(1C), 137,0(1C), 162,9(1C). Masa: 167,0 [M], 166,0 [M-1].

5

Ejemplo-18: Preparación de 5,7-dibromotieno [2, 3-c] piridina



Se hizo reaccionar ácido 3-(cianometil)-2-tiofenocarboxílico (56,0 g, 0,335 mol) en tribromuro de fósforo (371 ml) y dimetilformamida (35 ml) a 120-125 °C durante 4 horas.

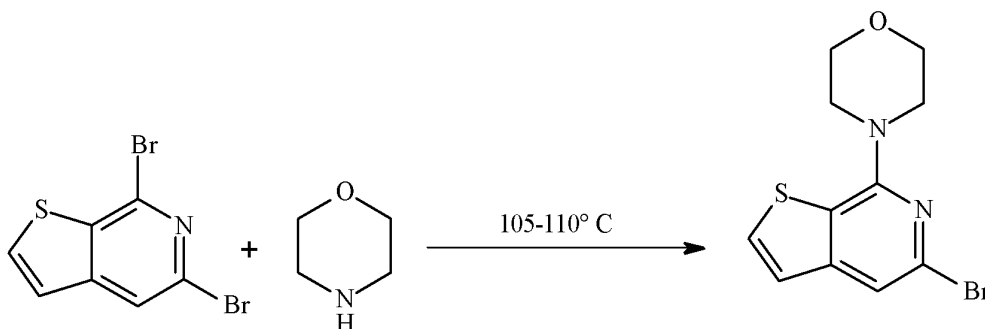
10 La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Una mezcla de reacción se añadió bajo enfriamiento al agua helada (3920 ml) para dar un producto bruto sólido. El producto bruto se disolvió en cloruro de metileno (560 ml), se lavó con 560 ml de agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El cloruro de metileno se eliminó por destilación a vacío y el sólido se trituró con hexano (400 ml) para dar 67,7 g (71,2 %) en forma de un

15 sólido de color marrón claro, punto de fusión 114 °C a 126,8 °C.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 7,42 (d, 1H), 7,80(d, 1H), 7,87(s, 1H)

¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 121,0(1C), 123,31(1C), 133,49(1C), 133,9 (1C), 134,9(1C), 138,4(1C), 147,8 (1C). Masa: 295,9 [M+2], 293,9 [M].

20 Ejemplo-19: Preparación de 4-(5-bromotieno [2, 3-c] piridin-7-il) morfolina

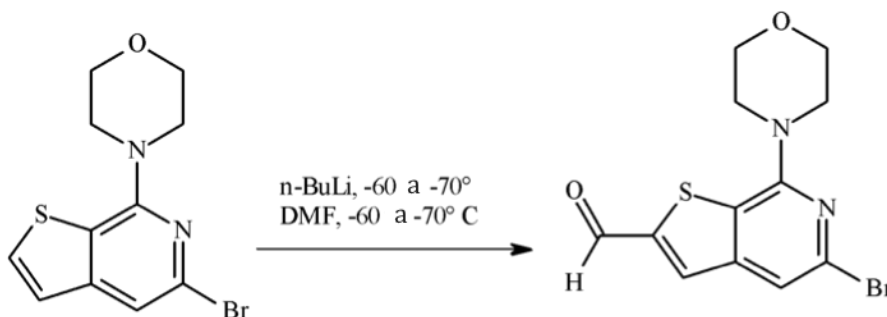


Se calentó una solución de 50 g (0,1706 mol) de 5, 7-dibromotieno [2, 3-c] piridina disuelta en 230 ml de etanol y 230 g de morfolina en un tubo sellado a temperatura constante a 105-110 °C durante 4 horas. El etanol y el exceso de morfolina se eliminaron por destilación al vacío, el producto bruto se disolvió en cloruro de metileno (1200 ml), se lavó con cuatro porciones de 400 ml de agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El cloruro de metileno se eliminó por destilación al vacío para dar 45,7 g (89,5%) en forma de un sólido de color marrón claro.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 3,62 (t, 4H, 2 CH₂), 3,76 (t, 4H, 2 CH₂), 7,43 (d, 1H), 7,37 (s, 1H) 8.05 (d, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 47,50(2C), 65,90(2C), 113,0(1C), 120,89(1C), 123,19(1C), 132,80(1C), 133,0(1C), 149,7(1C), 154,2(1C).

Masa: 299.15 [M], 297.2 [M-2].

Ejemplo-20: Preparación de 5- bromo-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridina-2-carbaldehído

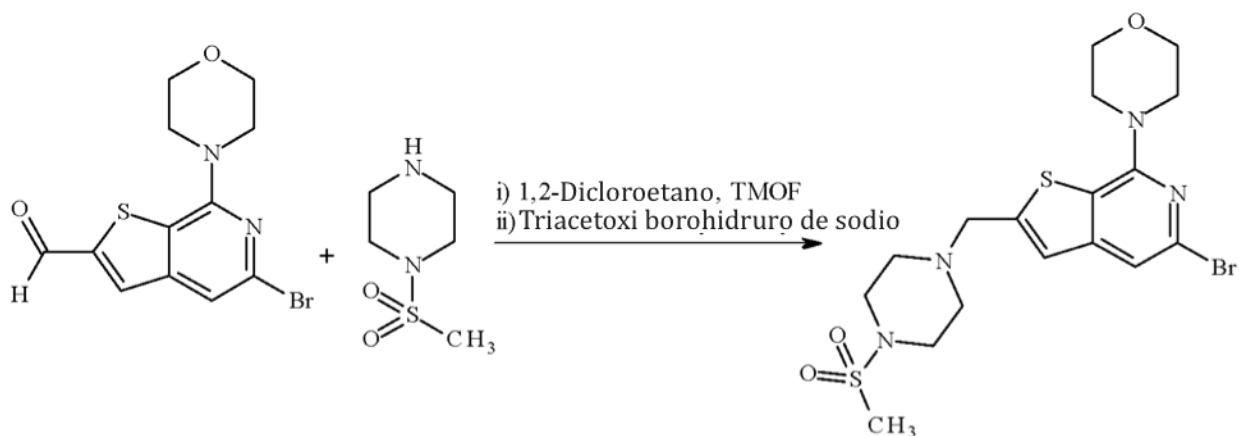


A una solución agitada de 42 g (0,1404 moles) de 4- (5-bromotieno [2, 3-c] piridin-7-il) morfolina en un tetrahidrofurano seco (750 ml) a -60 °C a -70 °C se le añadió 105 ml (0,168 moles) de 1,6 M de n-butil-litio en hexano. Después de agitar durante 1 hora y media se añadieron 20,5 g (0,28 moles) de dimetil formamida seca. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a -60 °C hasta -70 °C y luego se calentó lentamente hasta temperatura ambiente. Después de 2 horas más a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua/hielo (1000 ml) y se extrajo con dos porciones de 420 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación a vacío a 60 °C

para dar 38,40 g (83,7%) como un sólido amarillo, punto de fusión de 140 °C a 153,5 °C, con una pureza del 95,0% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 3,75 (t, 4H, 2 CH₂), 3,86 (t, 4H, 2 CH₂), 7,43 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 10,13 (s, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 48,0 (2C), 66,6 (2C), 114,3 (1C), 123,7 (1C), 131,54 (1C), 134,6 (1C), 146,2 (1C), 148,2 (1C), 155,0 (1C), 184,3 (1C). Masa: 328,0 [M+1]

Ejemplo 21 Preparación de 4-[5-bromo-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina



10

A una solución agitada de 50,0 g (0,1529 moles) de 5-bromo-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridina-2-carbaldehído, se añadieron 40,0 g (0,2439 mol, 1,60 meq) de 1-metanosulfonilpiperazina, 325 g de ortoformiato de trimetilo en 1500 ml de 1,2-dicloroetano durante 4 horas. Se añadieron 325 g de ortoformiato de trimetilo y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. A esto se añadieron 100 g (0,4716 mol, 3 meq) de triacetoxi borohidruro de sodio y 1000 ml de 1, 2-dicloroetano. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Luego se interrumpió la mezcla con 2500 ml de agua, se extrajo con dos porciones de 2000 ml de cloruro de metileno. Los extractos de cloruro de metileno se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Los disolventes se separaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se recrystalizó dos veces en acetonitrilo (300 ml) para dar 45,1 g (62,1%) como un sólido marrón, punto de fusión 218 °C a 224

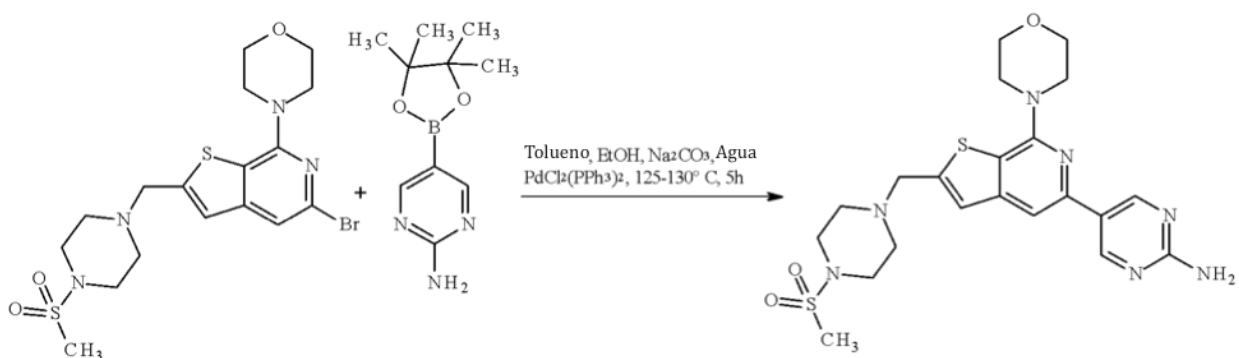
20

°C, con una pureza del 95,4% por HPLC.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,64 (t, 4H, 2 CH₂), 2,79 (s, 3H, CH₃), 3,27 (t, 4H, 2 CH₂), 3,68 (t, 4H, 2 CH₂), 3,83 (s, 2H, 1CH₂), 3,85 (t, 4H, 2 CH₂), 7,0 (s, 1H), 7,2(s, 1H) , Masa: 477,01[M+2].

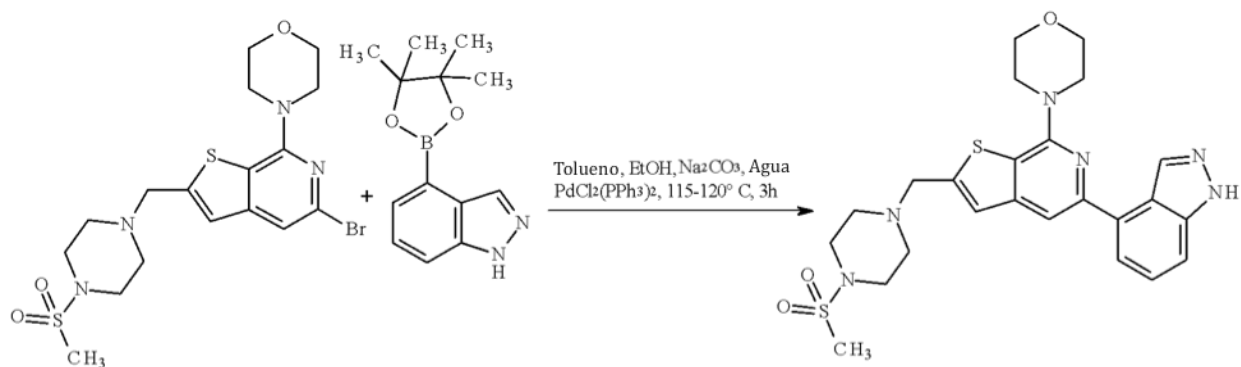
5

Ejemplo-22: Preparación de 5-[2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina (compuesto-2)



Se calentó una mezcla de 40,0 g (0,08421 moles) de 4-[5-bromo-2-[(4-
10 metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 20,4 g (0,0923 Mol, 1,10 meq) de éster de pinacol de ácido 2-aminopirimidin-5-borónico, 3,54 g (0,0056 mol, 0,06 meq) de dicloruro de bis (trifenilfosfina) paladio (II), etanol (300 ml), tolueno (300 ml), agua (100 ml) a 125-130°, C 31,20 g de carbonato de sodio (0,2943 mol, 3,50 meq) en el tubo de vidrio sellado durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los
15 disolventes se eliminaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se purificó mediante un método de purificación ácido-base para dar 33,150 g (80,15%) en forma de un sólido de color marrón claro con una pureza de HPLC del 99,6%.

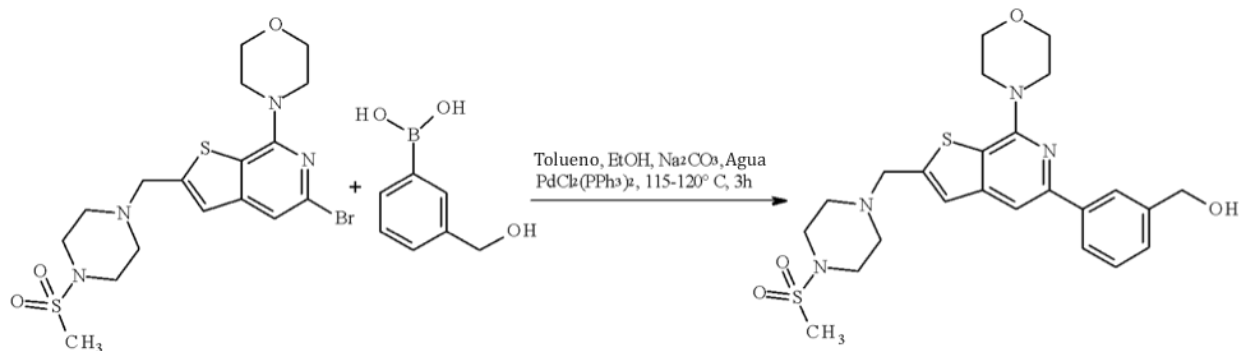
20 **Ejemplo-23: Preparación de 4-[5-(1H-indazol-4-il)-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina (Compuesto-3)**



Se calentó una mezcla de 1,0 g (2,1 mmol) de 4-[5-bromo-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 1,02 g 4,2 mmol, 2,0 meq) de 4(4, 4, 5, 5-tetrametil- [1, 3] dioxoborolan-2-il)-1H-indazol, 200,0 mg (0,28 mmol, 0,13 meq) bis (trifenilfosfina) paladio (II) dicloruro, etanol (20 ml), tolueno (40 ml), agua (4 ml), 800 mg de carbonato sódico a 115-120 °C en el tubo de vidrio sellado durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se separaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se purificó por cromatografía en columna utilizando hexano y acetato de etilo para dar 0,8 g (74,7%) en forma de un sólido de color marrón claro.

¹ HNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ (ppm): 2,59(t, 4H, 2-CH₂), 2,90(s, 3H), 3,15(t, 4H, 2-CH₂), 3,64(t, 4H, 2-CH₂), 3,84(t, 4H, 2-CH₂), 3,92(2H,CH₂), 7,45(s,1H), 7,94(s,1H), 7,56(d,1H), 7,58(d,1H), 7,69(d,1H), 7,43(d,1H), 13,1(s,1H). Masa: 514,0[M+2], 513,0[M+1]

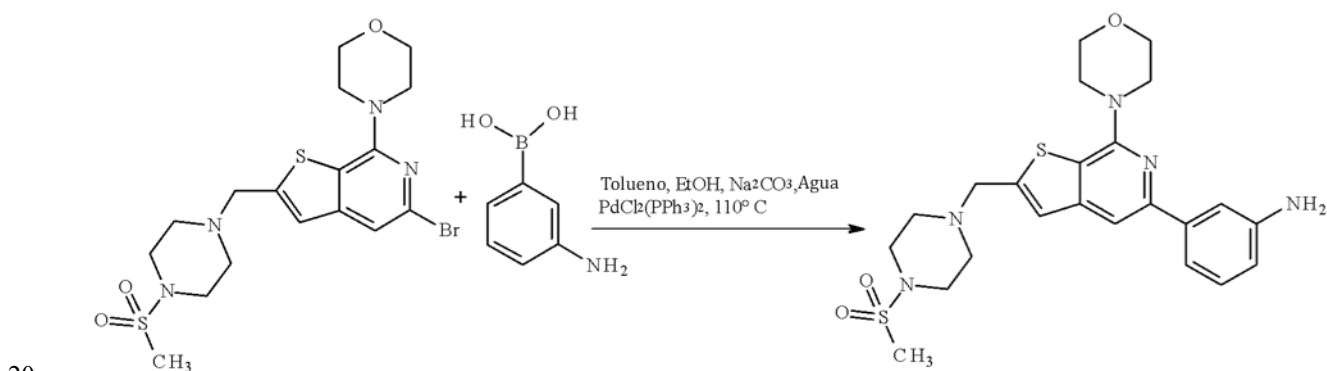
Ejemplo-24: Preparación de [3-[2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] fenil] metanol (compuesto-4)



Una mezcla de 0,5 g (1,05 mmol) de 4-[5-bromo-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 0,32 g (2,10 mmol, 2,0 meq) de ácido 3-(hidroximetil) fenilborónico, 100,0 mg (0,142 mmol, 0,13 meq) de dicloruro de bis (trifenilfosfina) paladio (II), etanol (20 ml), tolueno (20 ml), agua (2 ml), 400 mg de carbonato de sodio se calentó a 115-120 °C en el tubo de vidrio sellado durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se separaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se purificó por cromatografía en columna usando hexano y acetato de etilo para dar 450 mg (86,5 %) como un sólido amarillo.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO) Valor δ (ppm): 2,57(t, 4H, 2-CH₂), 2,89(s, 3H, CH₃), 3,14(t, 4H, 2-CH₂), 3,60(t, 4H, 2-CH₂), 3,82(t, 4H, 2-CH₂), 3,89(s, 2H, CH₂), 4,47(d, 1H), 4,57(d, 2H), 7,29(t, 2H), 7,42(t, 2H), 7,99(s, 1H), 8,0(s, 1H). ¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ ppm): 33,8 (1C), 45,4(2C), 48,3(2C), 51,8(2C), 56,2(1C), 59,8(1C), 63,1(1C), 66,2(2C), 107,1(1C), 121,4(1C), 122,8(1C), 124,8(1C), 126,6(1C), 127,2(1C), 132,5(1C), 139,0 (1C), 141,2(1C), 142,8(1C), 147,7(1C), 154,4(1C). Masa: 504,1[M+2], 503,1[M+1].

Ejemplo-25: Preparación de 3-[2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il] anilina (compuesto-5)



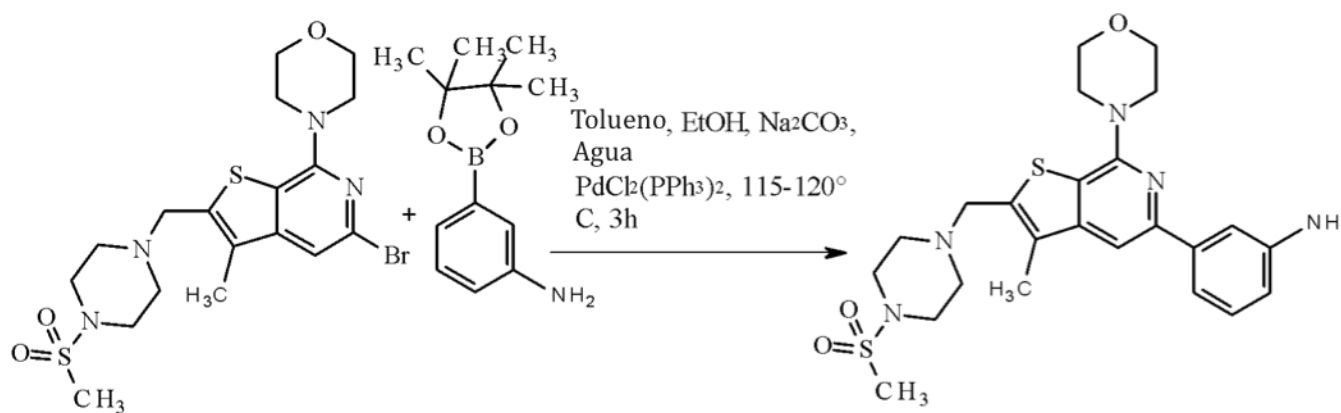
Se calentó una mezcla de 1,0 g (2,1 mmol) de 4-[5-bromo-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 0,65 g 2,2 mmol, 2,0 meq) de monohidrato de ácido 3-aminofenilborónico, 200,0 mg (0,28 mmol, 0,13 meq) de dicloruro de bis

(trifenilfosfina) paladio (II), etanol (20 ml), tolueno (40 ml), agua (4 ml) mg de carbonato de sodio a 125-130 °C en el tubo de vidrio sellado durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se eliminaron por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto sólido en bruto se purificó por recristalización utilizando hexano y acetato de etilo para dar 0,78 g (76,4%) en forma de un sólido de color marrón claro.

¹ HNMR (400 MHz, DMSO) Valor δ (ppm): 2,57(t, 4H, 2-CH₂), 2,89(s, 3H, CH₃), 3,14(t, 4H, 2-CH₂), 3,61(t, 4H, 2-CH₂), 3,80(t, 4H, 2-CH₂), 3,87(s, 2H, CH₂), 5,13(s, 2H, NH₂), 6,57(d, 1H), 7,0(t, 1H), 7,21(d, 1H), 7,38(s, 1H), 7,68(1H).

¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ ppm): 33,8 (1C), 45,4(2C), 48,1(2C), 51,8(2C), 56,3(1C), 66,2(2C), 106,9(1C), 112,1(1C), 114,2(1C), 114,3(1C), 121,1(1C), 122,9(1C), 129,1(1C), 139,9(1C), 147,5(1C), 148,6(1C), 148,7(1C), 149,7(1C), 154,3(1C). Masa: 488,3[M+1].

Ejemplo-26: Preparación de 3-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridin-5-il]anilina (compuesto 8)



Se calentó una mezcla de 1,0 g (2,1 mmol) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil] tieno [2, 3-c] piridin-7-il] morfolina, 0,92 g (4,2 mmol, 2,0 meq) de éster de pinacol de ácido 3-aminofenil borónico, 200,0 mg (0,28 mmol, 0,13 meq) de dicloruro de bis(trifenilfosfina) paladio (II), etanol (20 ml), tolueno (40 ml) agua (4 ml) y 800 mg de carbonato sódico a 125-130 °C en el tubo de vidrio sellado durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y los disolventes se eliminaron por destilación al

vacío para dar el producto bruto. El producto sólido bruto se purificó usando hexano y acetato de etilo para dar 0,82 g (80%) en forma de un sólido marrón claro.

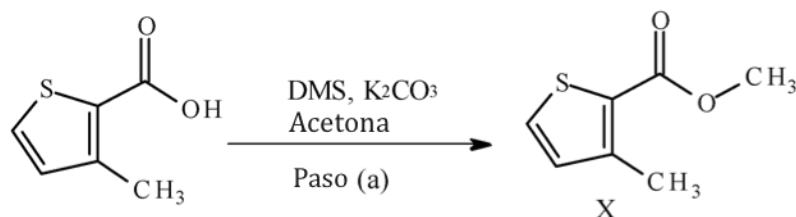
¹ HNMR (400 MHz, DMSO) Valor δ (ppm): 2,57(t, 4H, 2-CH₂), 2,89(s, 3H, CH₃), 3,14(t, 4H, 2-CH₂), 3,60(t, 4H, 2-CH₂), 3,79(t, 4H, 2-CH₂), 3,88(s, 2H, CH₂), 6,87(s, 2H, NH₂), 7,32(s, 1H), 7,73(s, 1H), 8,93(s, 2H).

¹³ CNMR (400 MHz, CDCl₃) Valor δ - ppm): 33.8 (1C), 45.4(2C), 48.0(2C), 51.8(2C), 56.2(1C), 66.2(2C), 105.1(1C), 120.6(1C), 121.5(1C), 121.5(1C), 122.7(1C), 145.5(1C), 147.8(1C), 148.6(1C), 154.5(1C), 156.2(1C), 163.2(1C).

Mass: 491.3[M+2], 490.3[M+1]

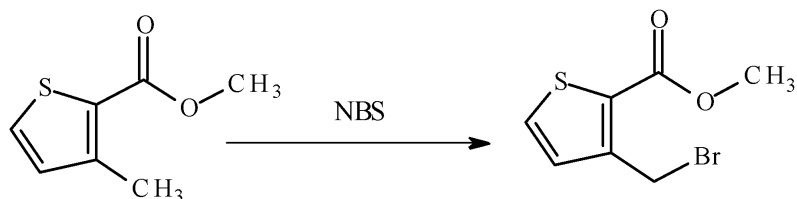
10

Ejemplo-27: Preparación de 3-metiltiofeno-2-carboxilato de metilo



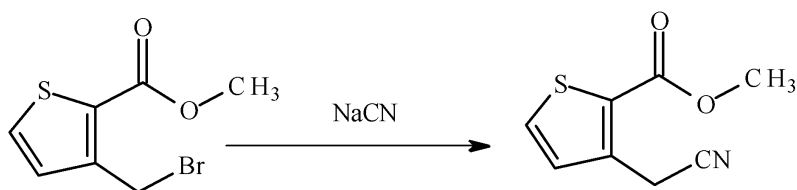
A una solución agitada de 100 g (0,7023 moles) de ácido 3-metil-2-tiofeno carboxílico en 1000 ml de acetona se añadieron 122,0 g (0,8827 moles) de carbonato de potasio en 500 ml de acetona y se añadió gota a gota 89,0 g (0,7056 moles) de sulfato de dimetilo, mientras se mantiene la temperatura de la mezcla de reacción a 25-30 °C. Cuando la adición se completó, se agitó la solución a 25-30 °C durante 4 horas. La acetona se eliminó por destilación al vacío y la mezcla de reacción se diluyó con 3000 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por enfriamiento y se extrajo con tres porciones de 1000 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron dos veces con porciones de 1000 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación a vacío a 60 °C para dar 105,2 g (95,6 %) en forma de una masa aceitosa de color amarillo claro con una pureza del 99,8 % por HPLC.

25 Ejemplo-28: Preparación de 3-(bromometil) tiofeno-2-carboxilato de metilo



A una solución agitada de 200 g (1,2805 moles) de 3 metiltiofen-2-carboxilato de metilo en 1220 ml de tetracloruro de carbono se añadieron 228,0 g (1,2805 moles) de N-bromosuccinimida y se añadieron 12,40 g (0,0512 moles) de peróxido de benzoilo mientras se mantuvo la temperatura de la mezcla de reacción a 25-30 °C. Cuando la adición se completó, se calentó la mezcla de reacción a 75-80 °C y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con 100 ml de tetracloruro de carbono. La masa del filtrado se mezcló con dos porciones de 1660 ml de carbonato de sodio al 5 % y dos veces con porciones de 1660 ml de agua, y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El tetracloruro de carbono se eliminó por destilación al vacío a 65 °C para dar el producto bruto. A continuación, el producto bruto se trituroó con hexano (540 ml) para dar 190,0 g (63,0 %) como un sólido con una pureza del 97,4 % por HPLC.

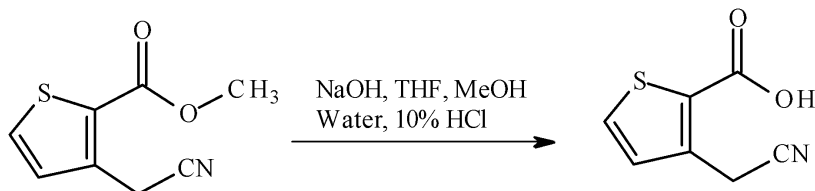
Ejemplo-29: Preparación de 3-cianometil-2-tiofen-2-carboxilato



A una solución agitada de 51,50 g (1,05 moles) de cianuro de sodio en 220 ml de agua se le añadieron 185,0 g (0,7868 moles) de 3-(bromometil) tiofeno-2-carboxilato y 500 ml de metanol. Cuando la adición se completó, la mezcla de reacción se calentó a 50-55 °C y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 4800 ml de agua mientras se mantenía a 25-30 °C por enfriamiento y se extrajo con dos porciones de 1800 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron dos veces con porciones de 1800 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación al vacío a 60 °C para dar el producto bruto. A continuación, el producto bruto se trituroó con hexano (680 ml) para dar 119,0 g (83,0 %)

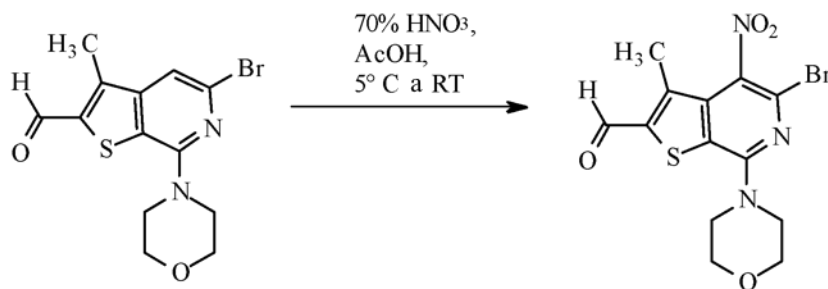
como un sólido de color marrón claro con una pureza del 88,8 % por HPLC.

Ejemplo-30: preparación de ácido 3-cianometil-2-tiofenocarboxílico



5 Se disolvieron 115,0 g (0,6352 moles) de 3-cianometil-2-tiofeno-2-carboxilato de etilo en una mezcla de metanol (575 ml) y tetrahidrofurano (575 ml), y se añadió hidróxido de sodio acuoso 1 N (900 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y la mezcla de reacción se diluyó con 3450 ml de agua y se acidificó con ácido clorhídrico 1N, y se extrajo con dos porciones de 1725 ml de acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con 3450 ml de agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El acetato de etilo se eliminó por destilación a vacío a 60 °C para dar el producto bruto. Después, el producto bruto se trituró con hexano (1150 ml) para dar 95,2 g (89,7 %) como un sólido blanco con una pureza del 89,4% por HPLC.

15 **Ejemplo-31: Preparación de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-4-nitro-tieno [2, 3-c] piridina-2-carbaldehído:**

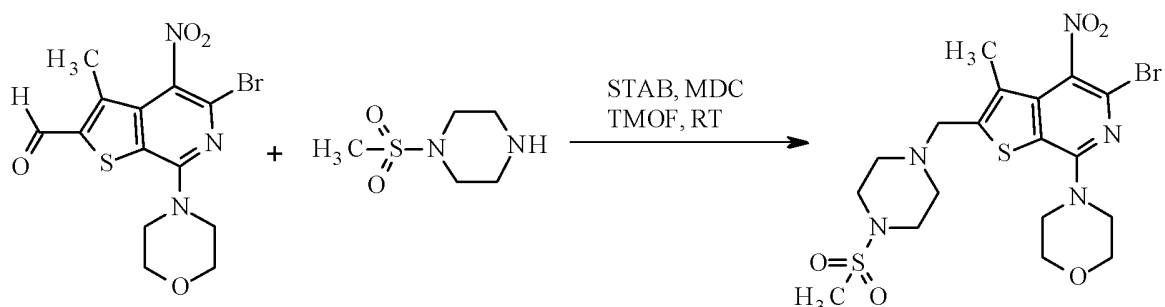


Se hizo reaccionar una mezcla de 13 g (38 mmol) de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-tieno [2, 3-c] piridina-2-carbaldehído con 11,2 ml (95 mmol, 2,3 meq) de ácido nítrico al 70 % en ácido acético (200 ml) a 5-10 °C en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó en hielo triturado y se filtró para proporcionar 12,5 g de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-4-nitro-tieno[2,3-c] piridina-2-carbaldehído

como sólido de color verde amarillento.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 2,58 (s, 3H, CH_3); 3,89 (m, 8H, 4 X CH_2); 10,34 (s, 1H, CHO). Masa: 388,1 [M+2]

5 **Ejemplo-32: Preparación de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il)metil]-4-nitro-tieno [2,3 - c] piridin-7-il]morfolina**

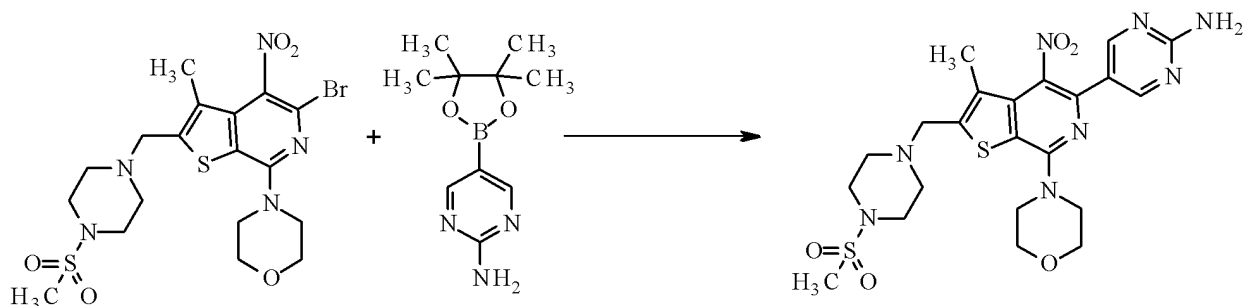


Se hizo reaccionar una mezcla de 500 mg (1,3 mmol) de 5-bromo-3-metil-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c] piridina-2-carbaldehído con 366 mg (2,2 mmol, 1,6 meq) de 1-metilsulfonilpiperazina en presencia de 5,92 g (55,8 mmol, 40 meq) de ortoformiato de trimetilo (TMOF) seguido por reducción usando 1,37 g (6,5 mmol, 5,0 meq) de triacetoxiborohiruro sódico (STAB) en cloruro de metileno a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó en agua y se extrajo con cloruro de metileno. El disolvente se eliminó por destilación y el producto bruto resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando acetato de etilo y hexano para proporcionar 600 mg de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il)metil]-4-nitro-tieno-[2,3-c]piridin-7-il]morfolina en forma de un sólido de color amarillo.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 2,07 (s, 3H, CH_3); 2,60-2,62 (m, 4H, 2 X CH_2); 2,90 (s, 3H, CH_3); 3,12-3,13 (m, 4H, 2 X CH_2), 3,76 (s, 8H, 4 X CH_2); 3,89 (s, 2H, CH_2).

20

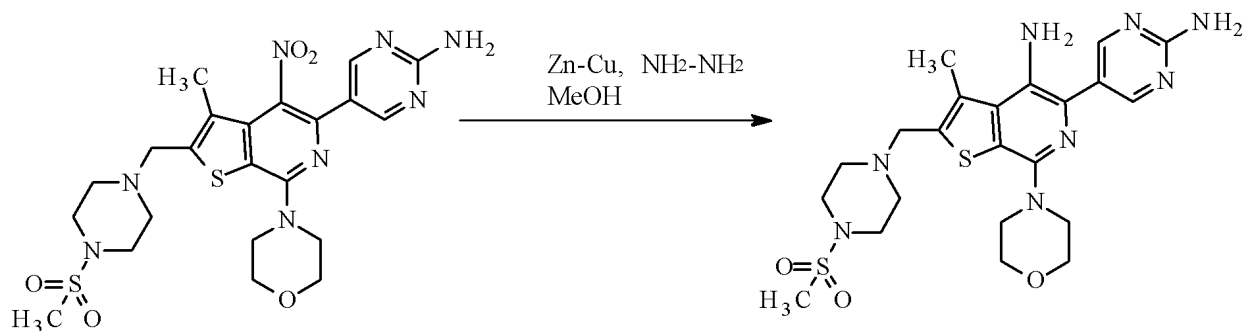
Ejemplo-33: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il)metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina (compuesto 9)



Se calentó una mezcla de 750 mg (14,4 mmol) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-4-nitro-tieno [2,3 - c] piridin-7-il] morfolina, 640 mg (28,9 mmol, 2,0 meq) de 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidin-2-amina, tolueno (30 ml), etanol (15 ml), carbonato de sodio acuoso (3 ml) y 132 mg (0,13 meq) de $\text{PdCl}_2(\text{TPP})_2$ a 115 - 120 °C en un tubo de vidrio sellado durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y el disolvente se separó por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna utilizando una mezcla de acetato de etilo, hexano y metanol para proporcionar 500 mg de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c] piridin-5-il] pirimidin-2-amina en forma de polvo de color amarillo.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 2,11 (s, 3H, CH_3); 2,60-2,62 (m, 4H, 2 X CH_2); 2,90 (s, 3H, CH_3); 3,13-3,14 (m, 4H, 2 X CH_2), 3,74-3,78 (s, 8H, 4 X CH_2); 3,90 (s, 2H, CH_2); 8.41 (s, 2H, Ar-H).

Ejemplo-34: Preparación de 5-(2-amino-pirimidin-5-il)-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2,3-c]piridin-4-amina (compuesto 10)

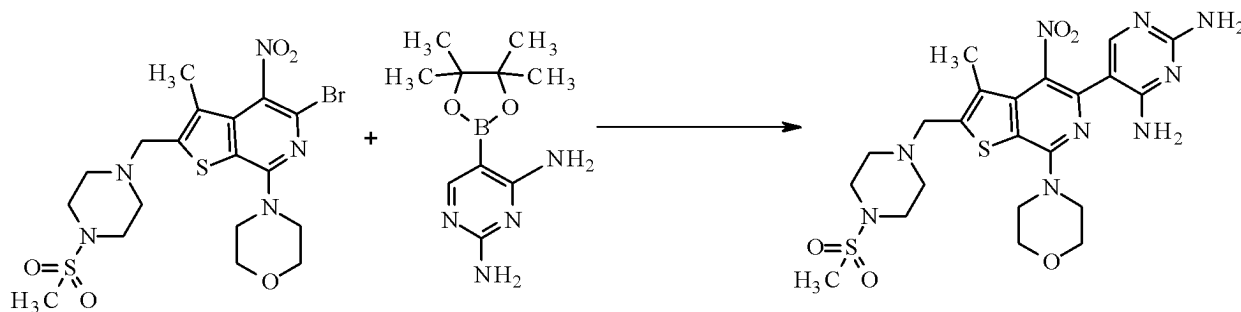


Una mezcla de 50 mg (0,09 mmol) de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il)

metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c]piridin-5-il]pirimidin-2-amina se redujo utilizando 120 mg (0,9 mmol, 10,0 meq) de complejo de zinc-cobre y 80% de hidrato de hidrazina (2,4 ml) en metanol (5 ml) a 50 - 55 °C en atmósfera de nitrógeno para 7 horas. La mezcla de reacción se enfrió y el disolvente se separó por destilación al vacío para dar el producto bruto. El producto se extrajo con cloroformo (200 ml) y se lavó con agua. La solución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se filtró. El disolvente se separó por destilación usando vacío para dar 20 mg de 5-(2-amino-pirimidin-5-il)-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2,3-c] piridin-4-amina como un sólido de color amarillo pálido. La pureza por HPLC es > 95%.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 2,64 (s, 3H, CH₃); 2,66-2,68 (m, 4H, 2 X CH₂); 2,81 (s, 3H, CH₃); 3,28-3,30 (m, 4H, 2 X CH₂), 3,36-3,38 (m, 4H, 2 X CH₂); 3,78 (s, 2H, CH₂); 3,88-3,90 (m, 4H, 2 X CH₂); 4,00 (bs, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 5,18 (s, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 8,69 (s, 2H, Ar-H). Masa: 519,6 [M+1]

Ejemplo-35: Preparación de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c]piridin-5-il]pirimidina-2,4-diamina (Compuesto 11)

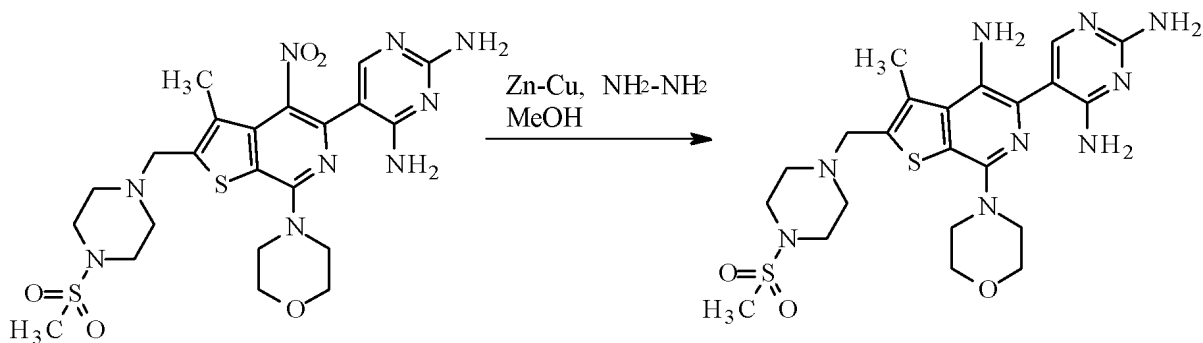


Una mezcla de 55 mg (0,106 mmol) de 4-[5-bromo-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-4-nitro-tieno [2,3-c] piridin-7-il] morfolina se condensó con 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidina-2,4-diamina en bruto (preparada por reacción de 0,5 g (2, 4-diamino-5-bromopirimidina y 1,34 g de bis (pinacolato) diboro en presencia de PdCl₂ (TPP) 2 y acetato de potasio en 1,4-dioxano), tolueno (4 ml), etanol (4 ml), carbonato de sodio acuoso (0,4 ml) y 10 mg de PdCl₂(TPP)₂ y se calentó a 115 - 120 °C en un tubo de vidrio sellado durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y

el disolvente se eliminó por destilación a vacío para dar producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna usando una mezcla de acetato de etilo, hexano y metanol para proporcionar 10 mg de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c]piridin-5-il] pirimidin-2,4-diamina en forma de un sólido de color amarillo.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 2,18 (s, 3H, CH₃); 2,67-2,69 (m, 4H, 2 X CH₂); 2,82 (s, 3H, CH₃); 3,29-3,30 (m, 4H, 2 X CH₂); 3,72-3,74 (m, 4H, 2 X CH₂); 3,82 (s, 2H, CH₂); 3,88-3,89 (m, 4H, 2 X CH₂); 5,12 (bs, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 5,50 (bs, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 7,94 (s, 1H, Ar-H). Masa: 564.06 [M+1]; DSC: 249-252 °C.

Ejemplo 36 Preparación de 5-[4-amino-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2,3-c] piridin-5-il]pirimidina-2,4-diamina (compuesto 12)



Una mezcla de 110 mg (0,19 mmol) de 5-[3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-4-nitro-tieno [2,3-c] piridin-5-il] pirimidina-2,4-diamina mediante la utilización de 300 mg (1,95 mmol, 10,0 meq) de complejo de zinc-cobre y 80% de hidrato de hidrazina (6,0 ml) en metanol (20 ml) a 50 - 55 °C bajo atmósfera de nitrógeno por 7 horas. La mezcla de reacción se enfrió y el disolvente se separó por destilación a vacío para dar el producto bruto. El producto se extrajo con cloroformo (200 ml) y se lavó con agua. La solución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se filtró. El disolvente se separó por destilación usando vacío seguido de purificación en columna para dar 57 mg de 5-[4-amino-3-metil-2-[(4-metilsulfonilpiperazin-1-il) metil]-7-morfolino-tieno [2,3-c]piridin-5-il] pirimidin-2,4-diamina en forma de un sólido de color amarillo pálido.

La pureza por HPLC es >95%.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ ppm): 2,63 (s, 3H, CH₃); 2,67-2,68 (m, 4H, 2 X CH₂); 2,81 (s, 3H, CH₃); 3,30-3,32 (m, 8H, 4 X CH₂); 3,78 (s, 2H, CH₂); 3,89-3,90 (m, 4H, 2 X CH₂); 4,03 (s, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 4,84 (s, 2H, NH₂, D₂O intercambiable);
5 5,55 (bs, 2H, NH₂, D₂O intercambiable); 8,17 (s, 1H, Ar-H). Masa: 534,2 [M+1]

Pruebas biológicas:

A: Estudios in vitro: Se disuelven los compuestos 1 y 2 en medio de cultivo celular y DMSO a una concentración de 10 mM para estudios in vitro. La solución madre se diluye adicionalmente con el mismo medio de cultivo celular y se usa en concentraciones de
10 0,01 µm a 10 µm. Para el estudio, los resultados de los cuales se describen aquí las líneas celulares de tumores sólidos de pulmón, mama, páncreas, próstata y glioma.

La proliferación celular por ensayo de MTT se realizó de la siguiente manera: se sembraron de 1000 a 10.000 células por pocillo en placas de 96 pocillos y se añadieron por triplicado diferentes concentraciones de compuesto 1 y 2 que van desde 10 µm hasta
15 0,1 µm. Después de incubar las células con el compuesto 1 y 2 durante el período de tiempo requerido de 24 a 72 horas, se añadieron 15 µm de 5 mg/ml de MTT y se incubó durante 4 horas adicionales a 37°C y 5% de CO₂. Después de 4 horas, los cristales de formazano se disolvieron en tampón de solubilización durante la noche a 37°C. La absorbancia se midió en el lector Elisa a una longitud de onda doble de 570-630 nm.
20 Mediante el ensayo de MTT se calculan los valores de IC₅₀ del compuesto 1 y 2. Los valores de IC₅₀ obtenidos mediante el ensayo de MTT se tabularon en la tabla mostrada en la figura 1.

B: Estudios in vivo:

a. MTD (estudio de dosis máxima tolerada en ratones)

25 El método se llevó a cabo según el procedimiento de la OCDE. El estudio se llevó a cabo utilizando 5 (2 machos + 3 hembras) ratones albinos suizos con un peso entre 18-30 gramos. Todos los animales fueron ayunados durante 3 horas antes de la administración oral del fármaco. Después de preparar la muestra, se administró inmediatamente a sus cuerpos, a todos los animales según el peso. Después de la administración del fármaco se

observaron todos los animales durante ½ hora, 1 hora, 2 horas, 4 horas y se observó mortalidad durante 14 días. Al final de 14 días todos los animales supervivientes fueron autopsiados y se cortó el estómago abierto y se observó para la absorción del fármaco a través del GIT. El resultado se proporciona en la Figura -1.

5

- COMPUESTO 2: MTD > 2000 mg/kg, p.o (Observación de dosis única de 14 días)
- COMPUESTO 1: MTD = 500 mg / kg, p.o (Observación de dosis única de 14 días)

b. Antagonismo del tumor inducido por MIA Paca - 2 en ratones desnudos:

Este estudio se llevó a cabo con 20 ratones desnudos machos. El pesaje de ratones desnudos se tomó inicialmente antes de la inoculación de la línea celular y se dividieron en cuatro grupos.

Grupo - I: Control positivo (5 machos)

Grupo - II: COMPUESTO 2 (5 machos) (200 mg / kg, p.o)

Grupo - III: COMPUESTO 1 (5 machos) (50 mg / kg, p.o)

15 Grupo - IV: Estándar (5 machos) (clorhidrato de erlotinib - 50 mg / kg, p.o y clorhidrato de gemcitabina - 120 mg / kg, i.p.)

La línea celular se inoculó a ratones desnudos subcutáneamente al flanco del miembro posterior derecho a una concentración de 1×10^7 células/0,2 ml. Los animales se observaron para la aparición de tumor diariamente. El volumen del tumor se midió usando la fórmula $\frac{1}{2} l \times w^2$ (l = longitud del tumor y w = ancho del tumor). Cuando el volumen tumoral medio se registró por encima de 400 mm³, se inició el tratamiento con los fármacos anteriores. Los fármacos anteriores se administraron oralmente diariamente durante 30 días, excepto que el clorhidrato de gemcitabina que se administró el primer y tercer día de cada semana. El peso de los ratones desnudos se tomó diariamente antes de la dosificación y la medición del tumor se realizó en días alternativos usando un

20

25

calibrador de Vernier digital. Los animales supervivientes se sacrificaron después de que la dosificación se completó durante 30 días y se recogieron órganos (tumor con piel y páncreas).

Los ratones muertos durante el programa experimental, el tumor con piel y páncreas se recogieron y el tumor con piel se almacenó en formalina tamponada al 10% y el páncreas se almacenaron en solución de Bouin. Todos los órganos después de la recolección

30

fueron enviados para histopatología. Los resultados observados se explican a continuación.

Control: Se observó que el área tumoral media era de 33,13 mm². Dos de los 5 (40%) tumores no mostraron ninguna invasión al tejido circundante, mientras que un número igual (40%) mostró invasión vascular. Un tumor mostró propagación hacia la dermis.

COMPUESTO 2 (200 mg / kg, p.o): El área tumoral media fue de 10,90 mm². Se localizaron tres de los 5 (60%) tumores y no se observó invasión tumoral mientras que el resto (40%) mostró invasión vascular.

COMPUESTO 1 (50 mg / kg, p.o): El área tumoral media fue de 8,60 mm² y sólo 1/5 (20%) mostró invasión al músculo subyacente mientras que el 80% restante mostró poca actividad.

Los resultados se muestran en la figura 2.

Estándar [Erlotinib (50 mg/kg, p.o) + Gemcitabina (120 mg/kg, i.p)]: El área tumoral media fue de 11,10 mm². La muestra 1 no tiene presencia de tumor, mientras que el 60% del tumor no mostró invasión y sólo 1 (20%) mostró invasión vascular.

a. Antagonismo del tumor inducido por NCI-H292 en ratones desnudos:

El estudio se llevó a cabo con 15 ratones desnudos (8 machos + 7 hembras). Los ratones desnudos se pesaron inicialmente antes de la inoculación de la línea celular y se hicieron en grupos. Se agruparon así:

Grupo - I: Control positivo (4 machos + 1 hembra)

Grupo - II: COMPUESTO 2 (2 machos + 3 hembras) (200 mg / kg, p.o) (mostrado en la figura 4)

Grupo - III: COMPUESTO 1 (2 machos + 3 hembras) (50 mg / kg, p.o) (mostrado en la figura 3)

La línea celular se inoculó a los ratones desnudos subcutáneamente al flanco del miembro posterior derecho a una concentración de $6,25 \times 10^5$ células/0,2 ml. Se monitoreó diariamente a los animales para observar la aparición de tumor. El volumen del tumor se midió usando la fórmula $\frac{1}{2} l \times w^2$ (l = longitud del tumor y w = ancho del tumor).

Cuando el volumen tumoral medio se registró por encima de 400 mm³, se inició el

tratamiento con los fármacos anteriores. Los fármacos anteriores se administraron oralmente diariamente durante 40 días. El peso de los ratones desnudos se tomó diariamente antes de la dosificación y la medición del tumor se realizó en días alternativos usando un calibrador de Vernier digital. Los animales supervivientes se sacrificaron después de que la dosificación se completó durante 40 días y se recogieron órganos (tumor con piel e hígado). Los ratones que murieron durante el programa experimental, el tumor con la piel y el hígado fueron recogidos y almacenados en formalina tamponada al 10%. Todos los órganos después de la recogida se enviaron para histopatología.

10 **Observaciones histopatológicas:**

El informe histopatológico sugiere que en el control positivo se encontró que el tumor subcutáneo con invasión muscular estaba presente en todos los animales (5 animales). COMPUESTO 2 a dosis de 200 mg/kg durante 7 días de tratamiento mostró el aclaramiento del tumor en todos los animales (5/5). El COMPUESTO 1 a la dosis de 50 mg/kg durante 15 días mostró la depuración del tumor en el 80% de los animales (4/5). De este modo se sugiere la actividad antitumoral contra el NCI-H292 (cáncer de pulmón Erlotinib resistente).

Ventajas:

20

1. Nuevos compuestos de 7-(morfolinil)-2-(N-piperazinil)-metil tieno [2,3-c] piridinas de fórmula – I que son útiles en el tratamiento de enfermedades cancerosas en especies de sangre caliente.
252. El proceso da como resultado proporcionar nuevos compuestos intermedios
3. El procedimiento también da como resultado la preparación de derivados de tieno [2,3-c] piridina de grado puro de fórmula-I conveniente para cualquier escala de operación.